
ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

CHARLES CHAMBERLAND

Charles CHAMBERLAND, sous-directeur de l'Institut Pasteur, membre du comité de direction de ces *Annales* depuis leur fondation, a succombé, après quelques mois de maladie, le samedi 2 mai dernier.

Nous reproduisons, pour les lecteurs des *Annales*, les discours prononcés aux obsèques, au nom de l'Institut Pasteur, par MM. Roux et Darboux, et nous les faisons suivre des travaux publiés par Ch. CHAMBERLAND.

Rappeler les œuvres du savant que nous perdons est le meilleur hommage que nous puissions rendre à sa mémoire.

LA RÉDACTION.

DISCOURS

PRONONCÉ AUX OBSÈQUES, PAR M. ROUX,

AU NOM DE L'INSTITUT PASTEUR

Avec Charles Chamberland disparaît un des meilleurs collaborateurs de Pasteur, un de ceux qui l'ont aidé d'abord à établir une technique rigoureuse, ensuite à accomplir la série de travaux qui, de 1877 à 1886, ont illustré le laboratoire de la rue d'Ulm.

Atténuation des virus et inoculations préventives, étiologie et prophylaxie du charbon, vaccination contre le rouget, vaccination antirabique, telle est l'énumération des grandes découvertes auxquelles Chamberland a pris part.

Il a travaillé avec Pasteur non seulement en collaborateur guidé par le Maître, mais aussi en inventeur apportant sa contribution personnelle à l'œuvre commune.

C'était précisément cet esprit d'invention, joint à un sens critique clairvoyant, que Pasteur appréciait chez Chamberland. Dès qu'il eut reconnu en lui ces rares qualités, il l'associa, tout jeune encore, à ses travaux.

La controverse entre Pasteur et Bastian, qui remettait en question la génération spontanée, éclatait au moment où Chamberland, sorti depuis un an de l'Ecole Normale, entraît au laboratoire de chimie physiologique en qualité d'agrégé-préparateur. Pasteur lui donna mission de rechercher les causes d'erreur dans les expériences du savant anglais ; ce fut pour Chamberland l'occasion de montrer son aptitude à débrouiller les choses compliquées. Il expliqua pourquoi les liquides organiques acides, chauffés à 100°, se conservent sans altération, tandis qu'ils se peuplent de microbes dès qu'on y ajoute assez de potasse stérile pour les rendre alcalins. La température de 100° ne suffit pas à tuer certaines spores ; celles-ci restent inactives tant que le milieu est acide, puis germent et pullulent s'il devient alcalin. Pour faire périr ces spores il est nécessaire de chauffer les liquides jusqu'à la température de 115° pendant

vingt minutes. Tout cela paraît aujourd'hui banal à force d'être classique et déjà beaucoup ne savent plus qui nous l'a appris.

En poursuivant l'étude des organismes sporulés résistant à haute température, Chamberland a établi les règles de la stérilisation des milieux de culture. Elles sont exposées dans sa thèse pour le doctorat ès sciences, soutenue en 1879. Celle-ci contient les fondements de la technique bactériologique actuelle.

Pour réaliser commodément la stérilisation des milieux de cultures et du matériel, Chamberland combine un autoclave devenu l'outil indispensable des laboratoires de bactériologie, des services de chirurgie et des postes de désinfection.

Chamberland étudie ensuite comment les parois poreuses retiennent les fins corpuscules en suspension dans les liquides. Il perfectionne les procédés de filtration employés au laboratoire en leur substituant la bougie de porcelaine dégourdie qui, en arrêtant les germes, stérilise les liqueurs altérables par la chaleur. On sait quelles découvertes importantes, notamment sur les poisons microbiens et les organismes ultra-microscopiques ont été rendues possibles par l'usage de la bougie Chamberland.

Pour le bactériologiste actuel, autoclave et bougies filtrantes sont des instruments de première nécessité ; il s'en sert chaque jour ; qu'il donne de temps en temps un souvenir reconnaissant à leur inventeur pour les facilités de travail qu'il lui doit.

L'application de la bougie filtrante à la purification des eaux de boisson a rendu le nom de Chamberland populaire et avec juste raison, parce que cet appareil si simple a économisé nombre de vies humaines.

L'œuvre d'hygiéniste de Chamberland ne se borne pas à l'invention de l'autoclave et du filtre qui portent son nom, il a aussi publié de nombreux essais sur les substances antiseptiques, en vue de reconnaître les plus efficaces pour la désinfection des objets et des locaux.

Chamberland a combattu l'idée de la transmission des germes infectieux par l'air, à un moment où elle était encore très répandue. Il pensait que l'atmosphère joue un bien faible rôle dans la diffusion des infections, il voulait qu'on s'inquiât moins de l'air et davantage des objets souillés, voire même des

vêtements et des mains des médecins et de leurs aides.

Je n'aurais pas dit tout ce que Chamberland a fait en faveur de l'hygiène si je ne parlais pas de ses travaux comme législateur. En 1883 il était élu député du Jura, il a marqué son passage à la Chambre en y présentant le rapport sur la loi pour la protection de la santé publique, loi dont nous avons attendu si longtemps le vote définitif.

Chamberland était un collaborateur comme Pasteur les aimait, hardi dans la conception et habile dans l'exécution. Aussi dès que la vaccination anti-charbonneuse eût fait ses preuves à Pouilly-le-Fort et dans d'autres expériences publiques, Pasteur lui confia la direction du service des vaccinations. Il s'en remettait au sens pratique de Chamberland pour surmonter les difficultés qui arrêtent si souvent la vulgarisation des découvertes les plus utiles. Les avantages que l'agriculture a tirés, depuis 1881, des vaccinations pastorienues, prouvent qu'elles ont été en bonnes mains.

Ce qui caractérise l'œuvre scientifique de Chamberland, c'est qu'elle est fertile en applications pratiques. Cependant Chamberland ne répugnait pas aux spéculations scientifiques, il en faisait de hardies et les exposait en leur donnant volontiers un tour paradoxal. C'est surtout pendant les séjours à la campagne, où le retenait souvent le soin de la santé de son fils, qu'il laissait vagabonder son esprit. Il était heureux lorsque, le fusil sur l'épaule, la pipe aux dents, il battait les champs autour de Chilly-le-Vignoble, son pays natal. Fort attentif en apparence à la quête de ses chiens, il combinait sans cesse expériences et appareils. De retour à la maison il tentait de les exécuter avec des moyens de fortune. Ce n'était pas seulement la bactériologie qui occupait cet esprit toujours en éveil. Bon mathématicien, il poursuivait, pour le plaisir, la solution de quelque problème ou imaginait quelque machine. Il avait construit un cadran solaire portatif, facile à orienter et dont les indications sont précises. Il en était aussi fier que de ses meilleurs travaux bactériologiques.

Lorsqu'en 1888 l'Institut de la rue Dutot ouvrit ses portes, Chamberland y fut nommé chef de service, puis il en devint un des sous-directeurs, en 1904, à la mort de Duclaux qu'il remplaça à l'Académie de médecine.

Plus qu'aucun de nos collègues j'ai pu connaître et apprécier Chamberland, car je suis entré chez Pasteur deux années seulement après lui. Duclaux d'abord et Chamberland ensuite furent mes premiers maîtres dans la science expérimentale. De 1878 à 1881, Chamberland et moi avons été les seuls collaborateurs du maître, Thuillier n'étant venu à la rue d'Ulm qu'après nous. La vie près de Pasteur n'était pas inactive; entraînés par l'intérêt des recherches, nous passions tout notre temps au laboratoire, prolongeant le travail fort avant dans la soirée. Nous étions enthousiasmés de la riche moisson que nous ramassions dans les champs inexplorés où nous conduisait Pasteur. Cette vie en commun n'est possible que si l'entente est parfaite entre ceux qui la mènent. Il en était ainsi entre Chamberland et moi. Pendant plus de trente années notre amitié n'a pas connu de défaillances; elle ne pouvait être rompue que par la mort. Et d'ailleurs comment ne pas s'entendre avec Chamberland? il était le camarade le plus loyal, l'ami le plus sûr qu'on pût souhaiter. Il avait la bonne humeur d'un homme bien portant qui réussit dans ses entreprises et qui le mérite.

A l'époque où je l'ai connu, il était vraiment plaisant à regarder : de haute taille, svelte, avec de beaux traits, éclairés par des yeux doux et rieurs, encadrés d'une barbe noire accentuant l'expression virile de sa physionomie. Toute sa personne annonçait la robustesse et la joie de vivre. Avec les années, l'embonpoint était venu, le teint s'était coloré, mais l'aspect de bonhomie spirituelle de l'homme mûr était aussi séduisant que la gracieuse prestance du jeune homme. Chamberland éveillait la sympathie de tous ceux qui entraient en relations avec lui.

Nos jeunes camarades de l'Institut Pasteur subissaient le charme et se plaisaient à aller causer dans son laboratoire. Ils le prenaient pour confident de leurs projets, de leurs ambitions et parfois aussi de leurs déceptions, car il était de bon conseil et pour les choses de la science et pour celles de la vie.

Chamberland a été un de ces êtres privilégiés qui font le bonheur autour d'eux. Par un juste-retour, le bonheur qu'il donnait aux autres lui a été rendu. Malgré sa fin prématurée sa vie est de celles que l'on peut envier. Il a collaboré à l'œuvre admirable de Pasteur, il a produit des travaux per-

sonnels utiles à tous, il a connu par sa famille, par ses amis les joies les plus délicates et les plus solides. Sa robuste constitution l'a garanti de la souffrance jusqu'à la maladie qui vient de nous le ravir. Maladie cruelle qu'il a envisagée avec la force d'âme d'un sage et qui a été adoucie par des amitiés fidèles, surtout par le tendre dévouement de sa femme et les caresses de son enfant. Les siens ont pu dire que son mal a causé le premier chagrin qui leur soit venu de lui.

La douleur de ceux qui ont perdu cet homme d'une si rare bonté ne peut être consolée, mais ils trouveront un réconfort dans la sympathie qui s'élève autour d'eux. Aujourd'hui ce sont les témoins de sa vie de travail qui rendent hommage à Chamberland, demain, à Chilly, sa dépouille sera reçue au pays natal par ses compatriotes qui l'ont connu enfant, qui l'ont vu grandir et qui sont fiers de lui. Puisse ce témoignage d'estime de toute une population adoucir le chagrin de cette mère de 80 ans qui, ayant espéré jusqu'à la dernière heure le retour de son fils convalescent, va se trouver en présence d'un cercueil.

En disant un dernier adieu à Chamberland, au nom de ses collègues, comment ne pas rappeler les collaborateurs de Pasteur prématurément disparus : Thuillier, Raulin, Nocard, Duclaux, Grancher et enfin Chamberland. Que de talents, que de forces évanouies ! La doctrine pastorienne est si féconde qu'elle suscitera des remplaçants aux chercheurs dont le labeur a été interrompu ; mais combien sont à plaindre ceux qui, ayant commencé le voyage avec ces bons compagnons, restent avec le triste devoir de saluer leur cercueil !

DISCOURS DE M. DARBOUX

Président du Conseil d'administration de l'Institut Pasteur.

Sans prendre garde à nos douleurs, la mort ne cesse de frapper autour de nous. Elle éclaircit chaque jour les rangs de ceux qui furent les amis de la première heure ou les disciples fidèles de notre cher et grand Pasteur. Après Duclaux, après le Dr Grancher, voici que Chamberland nous est enlevé, dans la force de l'âge par un mal qui n'a jamais pardonné. Je n'ai nullement la pensée de revenir sur ce que vous a dit, avec tant d'émotion, mon cher confrère le Dr Roux, de sa belle carrière scientifique si étroitement liée à celle du maître qui avait su l'attirer par son génie et le retenir par la confiance et l'affection : je voudrais seulement rappeler devant ce cercueil dont nous allons nous séparer la dette de reconnaissance que le conseil et l'assemblée de l'Institut Pasteur ont contractée envers Chamberland.

Dès 1875, après un court passage dans l'enseignement secondaire, il était devenu préparateur du laboratoire de la rue d'Ulm où Pasteur ne tarde pas à apprécier tout son zèle, toute son habileté. C'est au dévouement de Chamberland, en même temps qu'à celui du Dr Roux, que le maître fit appel quand il entreprit ces mémorables et difficiles travaux qui devaient renouveler les bases même de la médecine et aboutir à la triomphante expérience de Pouilly-le-Fort. Aussi lorsqu'en 1888, après le succès des expériences sur la rage, fut ouvert cet établissement de la rue Dutot qui, sur l'initiative de l'Académie des Sciences, devait porter le nom glorieux « d'Institut Pasteur », c'est à Chamberland que fut confié dès le début le service si important de la vaccination contre le charbon. Il prenait part, ai-je besoin de le dire, à tous nos travaux. Son caractère aimable, son esprit pondéré, ce bon sens pratique qui lui a permis d'appliquer de la manière la plus heureuse et la plus utile bien des idées de Pasteur, lui avaient assuré parmi nous une autorité exceptionnelle. En 1904, après la mort de

Duclaux et sur la proposition du Dr Roux, nous l'avions choisi pour remplir une place de sous-directeur. Son souvenir vivra parmi nous, nous le proposerons en exemple à nos jeunes successeurs. Il aura eu le grand mérite, mérite essentiel dans toute œuvre qui se fonde, de contribuer à former l'esprit de notre maison, cet esprit qui assure l'avenir; car il est fait de concorde et de dévouement à l'œuvre commune, et il associe la recherche scientifique la plus active et la plus pénétrante à la bienfaisance dans ce qu'elle a de plus délicat et de plus désintéressé.

LISTE DES TRAVAUX SCIENTIFIQUES PUBLIÉS

PAR CH. CHAMBERLAND

1° En collaboration avec M. Pasteur.

1878. — *La théorie des germes et ses applications à la Médecine et à la Chirurgie* (Comptes rendus, t. LXXXVI, p. 4037, et Bull. Ac. de Méd., 2^e série, t. VII, p. 432), avec la collaboration de M. Joubert.

1878. — *Sur le charbon des poules* (Compte rendu, t. LXXXVII, p. 47), avec la collaboration de M. Joubert.

1878. — *Sur l'étiologie du charbon*. (Comptes rendus, t. XCI, p. 86, et Bull. Ac. de Méd., 2^e série, t. IX, p. 682), avec la collaboration de M. Roux.

1880. — *Sur le non-récidive de l'affection charbonneuse* (Comptes rendus, t. XCI, p. 531, et Bull. Ac. de Méd., 2^e série, t. IX, p. 983).

1881. — *Sur une maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage* (Comptes rendus, t. XCII, p. 459, et Bull. Ac. de Méd., 2^e série, t. X, p. 94), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *Sur la longue durée de la vie des germes charbonneux* (Comptes rendus, t. XCII, p. 209), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *Longue durée de vie et conservation des germes charbonneux dans les terres cultivées* (Bull. Ac. de Méd., 2^e série, t. X, p. 144), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *De l'atténuation des virus et de leur retour à la virulence* (Comptes rendus, t. XCII, p. 429, et Bull. Ac. de Méd., 2^e série, t. X, p. 341), avec collaboration de M. Roux.

1881. — *Constatation des germes du charbon dans les terres de la surface des fosses où l'on a enfoui des animaux charbonneux* (Bull. Ac. de Méd., 2^e série, t. X, p. 308), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *De la possibilité de rendre les moutons réfractaires au charbon par la méthode des inoculations préventives* (Comptes rendus, t. XCII, p. 662), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *Le vaccin du charbon*. (Comptes rendus, t. XCII, p. 666), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *Sur la rage* (Comptes rendus, t. XCII, p. 4259, et Bull. Ac. de Méd., 2^e série, t. X, p. 717), avec la collaboration de MM. Roux et Thuillier.

1881. — *Comptes rendus d'expériences sur la vaccination charbonneuse* (Comptes rendus, t. XCII, p. 4378), avec la collaboration de M. Roux.

1881. — *Expériences de Pouilly-le-Fort sur la vaccination charbonneuse*. (Bull. Ac. de Méd., 2^e série, t. X, p. 782), avec la collaboration de M. Roux.

1882. — *Nouveaux faits pour servir à la connaissance de la rage* (Comptes rendus, t. XCV, p. 4487, et Bull. Ac. de Méd., 2^e série, t. XI, p. 1440), avec la collaboration de MM. Roux et Thuillier.

1881. — *Sur la rage* (Comptes rendus, t. XCVIII, p. 1229, et Bull. Ac. de Méd., 2^e série, t. XIII, p. 337 et 662), avec la collaboration de M. Roux.

2° En collaboration avec M. le Dr Roux.

1881. — *De la non-existence du Microzyma cretæ* (Comptes rendus, t. XCII, p. 1165).

1881. — *Sur la non-existence du Microzyma cretæ* (réponse à une note de M. A. Béchamp). Comptes rendus, t. XCII, p. 1,347.

1883. — *Sur l'atténuation de la virulence de la bactériidie charbonneuse sous l'influence des substances antiseptiques* (Comptes rendus, t. XCVI, p. 1088).

1883. — *Sur l'atténuation de la bactériidie charbonneuse et de ses germes sous l'influence des substances antiseptiques* (Comptes rendus, t. XCVI, p. 1410).

1887. — *Vaccination charbonneuse des lapins* (Annales de l'Institut Pasteur, t. I, p. 513).

1887. — *Immunité contre la septicémie conférée par des substances solubles*. (Annales de l'Institut Pasteur, t. I, p. 561.)

1888. — *Immunité contre le charbon, conférée par des substances chimiques*. (Annales de l'Institut Pasteur, t. II, p. 405.)

3° En collaboration avec M. Joubert.

1876. — *Note sur la fermentation des fruits plongés dans l'acide carbonique* (Comptes rendus, t. LXXXIII, p. 354).

4° En collaboration avec M. le professeur Strauss.

1882. — *Passage de la bactériidie charbonneuse de la mère au fœtus*. (Comptes rendus, t. XCV, p. 1290.)

1882. — *Recherches expérimentales sur la transmission de maladies virulentes aiguës de la mère au fœtus*. (Soc. de Biologie, 7^e série, t. IV, p. 683.)

1882. — *Recherches expérimentales sur la transmission de quelques maladies virulentes, en particulier du charbon, de la mère au fœtus*. (Archives de physiologie, p. 436.)

5° En collaboration avec M. E. Fernbach.

1893. — *La désinfection des locaux*. (Annales de l'Institut Pasteur, t. VII, p. 433 ; résumé dans la Revue scientifique, t. LI, p. 559.)

6° En collaboration avec M. Jouan.

1906. — *Les pasteurella*. (Annales de l'Institut Pasteur, t. XX, p. 81.)

7^o M. Chamberland a publié en outre :

1879. — *Recherches sur l'origine et le développement des organismes microscopiques.* (Thèse de doctorat, Annales scientifiques de l'École normale supérieure, 2^e série, t. VII, Supplément.)

1879. — *Résistance des germes de certains organismes à la température de 100°; conditions de leur développement.* (Comptes rendus, t. LXXXVIII, p. 659.)

1883. — *Le charbon et la vaccination charbonneuse, d'après les travaux récents de M. Pasteur.* (Bernard Tignol, éditeur.)

1884. — *Sur un filtre donnant de l'eau physiologiquement pure.* (Comptes rendus, t. XCIX, p. 247.)

1885. — *Sur la filtration parfaite des liquides.* (Société de Biologie, 8^e série, t. II, p. 117.)

1887. — *Les essences comme antiseptiques.* (Annales de l'Institut Pasteur, t. I, p. 153.)

1887. — *Résultats de la vaccination charbonneuse.* (Annales de l'Institut Pasteur, t. I, p. 301.)

1894. — *Résultats pratiques des vaccinations contre le charbon et le rouget, en France.* (Annales de l'Institut Pasteur, t. VIII, p. 161.)

8^o Conférences.

23 janvier 1881. — *Sur les travaux de M. Pasteur.* — A la Société industrielle du Nord de la France, à Lille. (Danel, imprimeur.)

1^{er} avril 1882. — *Rôle des microbes dans la production des maladies.* — A la Sorbonne. Association scientifique de France. (Gauthier-Villars, imprimeur-libraire.)

1883. — Un article : *L'œuvre de Pasteur.* (Revue scientifique, t. XXII, p. 97.)

1887. — *Rapport sur le traitement anti-rabique.* (Congrès international d'hygiène et de démographie tenu à Vienne, en 1887.)

1888. — *Les divers modes de la contagion.* — Rouen. (Revue scientifique, t. XLI, p. 329.)

Chamberland (Charles-Édouard) est né à Chilly-le-Vignoble (Jura), le 12 mars 1851; après avoir fait de bonnes études classiques au lycée de Lons-le-Saunier, il suivit le cours de mathématiques spéciales au collège Rollin à Paris et fut admis en 1871 à l'Ecole polytechnique et à l'Ecole normale, il opta pour cette dernière.

Voici l'énumération des titres scientifiques qu'il a obtenus et des fonctions qu'il a remplies.

1° Titres scientifiques.

- 1871 à 1874. Elève de l'École Normale supérieure.
- 1874..... Agrégé des sciences physiques.
- 1879..... Docteur ès-sciences physiques.
- 1881..... Lauréat de la Société centrale d'Agriculture.
(Prix Béhague).
- 1883..... Membre de la Société de Biologie.
- 1885..... Lauréat de l'Institut. (Prix des Arts insalubres.)
- 1904..... Membre de l'Académie de Médecine.

2° Fonctions.

- 1874-1875. Professeur au lycée de Nîmes.
 - 1875-1879. Agrégé-préparateur au laboratoire de M. Pasteur.
 - 1879-1888. Directeur-adjoint du laboratoire de M. Pasteur.
 - 1888-1904. Chef de service à l'Institut Pasteur.
 - 1904..... Sous-directeur de l'Institut Pasteur.
-

Recherches sur la mélanogénèse : Action de la Tyrosinase sur la Tyrosine

PAR M. GABRIEL BERTRAND

Les études entreprises depuis une douzaine d'années sur le mécanisme de la *mélanogénèse*, c'est-à-dire sur le mode de production des pigments noirs dans les liquides et les tissus de l'organisme, végétal ou animal, ont déjà fourni, comme résultat intéressant, la preuve qu'une diastasé oxydante, la tyrosinase, joue un rôle essentiel dans le phénomène. Du moins a-t-on reconnu qu'il en est ainsi dans le noircissement des suc de racines de betteraves et de tubercules de dahlia, du champignon appelé Russule noircissante¹, de l'hémolymphe² et des téguments³ de certains insectes, dans la formation de la sépia ou encre de seiche⁴, des tumeurs mélaniques chez le cheval⁵, de la coloration du pain bis⁶, etc.

1. GAB. BERTRAND, Sur une nouvelle oxydase ou ferment soluble oxydant, d'origine végétale. *Bull. Soc. chim.*, 3^e série, t. XV, p. 791 (1896), et *C. r. Ac. Sc.*, t. CXXII, p. 1215 (1896).

Id. La coloration du jus de betteraves et les ferments solubles oxydants. *Bull. Assoc. des Chimistes*, t. XIV, p. 19 (1896).

Dans une publication antérieure, nous avons, M. Bourquelot et moi (*C. r. Soc. biol.*, 10^e série, t. II, p. 582, 1895), attribué la coloration du suc de Russule noircissante, exposé au contact de l'air, à l'intervention d'un ferment oxydant. Nous n'avions pu reconnaître alors s'il s'agissait d'une oxydation diastasique directe, si, au contraire, il y avait, par suite de l'hydrolyse préalable d'un glucoside analogue à l'arbutine, production d'un chromogène sensible à la laccase. C'est probablement d'après cette publication que certains auteurs, éloignés en général de la lecture des travaux chimiques par leurs préoccupations, ont associé mon ancien collaborateur à la découverte de la tyrosinase. Mes recherches systématiques prouvent, au contraire, que j'ai introduit seul la notion de la tyrosinase dans la science. D'ailleurs, malgré la démonstration que j'ai faite de la présence simultanée de la laccase et de la tyrosinase dans le suc des champignons, M. Bourquelot n'en a pour ainsi dire jamais tenu compte.

2. O. VON FURTH et SCHNEIDER, Ueber tierische Tyrosinasen *Beit. z. chem. Physiol. Pathol.*, t. I, p. 229 (1901). Ce mémoire renferme un cours historique de la question.

3. C. GESSARD, Sur la tyrosinase de la mouche dorée. *Comptes rendus Ac. d. Sc.*, t. CXXXIX, p. 644 (1904).

4. PRZIBRAM, cité par v. Fürth et Schneider.

C. GESSARD, Tyrosinase animale. *Comptes rendus Soc. biol.*, t. LIV, p. 1304 (1902).

Id. Sur les oxydases des Seiches. *Comptes rendus Ac. Sc.*, t. CXXXVI, p. 631, (1903).

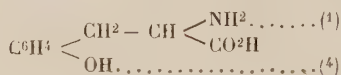
5. C. GESSARD, Sur la formation du pigment mélanique dans les tumeurs du cheval. *Comptes rendus Ac. d. Sc.*, t. CXXXVI, p. 1086 (1903).

6. G. BERTRAND et W. MUTERMILCH, Recherches sur le mode de coloration du pain bis. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXI, p. 833. (1907). Voir aussi *C. r. Ac. Sc. et Bull. Soc. Chimiq.* de la même année.

Dans la plupart des cas étudiés, c'est la tyrosine, provenant soit de l'hydrolyse diastasique d'une matière protéique (pain bis), soit d'une réaction encore inconnue, qui est transformée sous l'influence de la tyrosinase et qui donne, par suite d'une oxydation incomplète, naissance au pigment mélanique. Dans les autres cas, au contraire, la substance chromogène n'a pas encore pu être identifiée ni même obtenue.

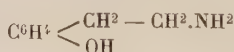
J'ai examiné, à la fois pour faciliter l'étude de ces derniers cas et pour éclaircir certaines questions connexes, la manière dont le ferment soluble oxydant se comporte vis-à-vis de diverses substances voisines de la tyrosine, substances dont plusieurs se rencontrent dans les cellules de l'organisme.

La tyrosine ou acide p-oxyphénylaminopropionique :

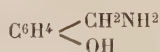


a d'abord été, en quelque sorte, décomposée pièce à pièce, c'est-à-dire qu'on a préparé, soit en simplifiant cette substance, soit à l'aide de méthodes synthétiques, toute une série de corps dont chacun représente une des étapes de la désintégration complète de la molécule primitive.

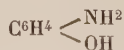
Ainsi, par distillation dans le vide, à la température d'ébullition du mercure (360°), on a provoqué la séparation du carboxyle et obtenu la p-oxyphényléthylamine :



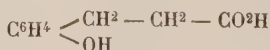
Diverses méthodes, plus ou moins connues, ont donné la p-oxyphénylméthylamine :



et la p-oxyphénylamine¹ :

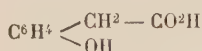


Ensuite, les dérivés dépourvus du groupement NH₂, c'est-à-dire les acides p-oxyphénylpropionique :

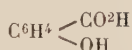


1. Cette dernière se trouve dans le commerce; on l'a simplement purifiée. Il en a été de même pour l'acide p-oxybenzoïque, le p-crésol et le phénol.

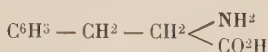
p-oxyphénylacétique :



et p-oxyphénylcarbonique (ou p-oxybenzoïque) :



La liste de ces corps a été complétée par celle de tous les composés correspondants, à partir de la phénylalanine :



jusqu'à l'acide benzoïque :



qui sont exempts de l'oxhydrile phénolique. Enfin, on a ajouté à la liste la chaîne latérale isolée, c'est-à-dire l'alanine :



avec ses divers débris, ainsi que le p-crésol :



et le phénol :



deux corps trouvés dans l'urine et dans les produits de putréfaction des matières protéiques qui doivent, d'après Baumann, être considérés comme les derniers termes de la simplification biochimique de la tyrosine.

Chacun de ces corps a ensuite été soumis en solution aqueuse, à la dilution d'une molécule-gramme dans 100 litres, à l'action de la diastase oxydante.

Je me suis servi dans toutes ces expériences, de la tyrosinase extraite du son de froment, qui est, comme je l'ai montré avec M. W. Mutermilch ¹, exempte de laccase.

J'ai utilisé aussi, dans une série d'expériences parallèles, la macération glycérinée de *Russula Queletii* Fr.

Cette macération, très active, renferme, à côté de la tyrosinase, une forte proportion de laccase ². Les résultats qu'elle

1. *Loc. cit.*

2. GAB. BERTRAND, *Compte rendu. Ac. Sc.*, t. CXXIII, p. 463 (1896), et *Bull. Soc. chim.*, 3^e série, t. XV, p. 1218 (1896).

fournit ne peuvent donc être attribués à la tyrosinase que si des essais particuliers avec le ferment de l'arbre à laque démontrent la non-intervention de la seconde oxydase.

Pour n'y plus revenir, je dirai que la tyrosinase du champignon se comporte qualitativement comme celle du son de froment, à la condition, toutefois, d'ajouter un peu de sel de calcium ou de magnésium, par exemple, une partie de chlorure pour cent de macération glycérinée. Autrement, comme la macération de Russule est pauvre en sels terreux et magnésieux et qu'on en met très peu, une goutte par centimètre cube, dans chaque essai, la teinte finale tarde un peu à se montrer et, avec les corps qui donnent un précipité melanique, celui-ci n'apparaît pas, ou seulement d'une façon partielle.

Ces remarques étant faites, je reviens aux expériences réalisées avec la tyrosinase du son de froment, c'est-à-dire à celles qui, étant les plus simples, sont les plus démonstratives.

Dans chacune de ces expériences, 2 c. c. de la solution du corps à examiner étaient additionnés d'un demi-centimètre cube de solution de tyrosinase à 2 0/0. L'activité de celle-ci était telle qu'avec la tyrosine une teinte rose apparaissait nettement après une dizaine de minutes et la coloration noire déjà après 4 à 5 heures. On avait soin de préparer aussi des mélanges témoins avec de la tyrosinase dont la solution avait été rendue inactive par un chauffage de 5 minutes dans l'eau bouillante. Enfin, pour éviter l'influence paralysante des fonctions basiques ou acides sur le ferment, on a employé les corps basiques à l'état de chlorhydrates et les corps acides à l'état de sels ammoniacaux.

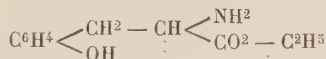
L'oxydation diastasique s'est manifestée par des colorations plus ou moins rapides et intenses avec les corps suivants :

NOMS DES CORPS	COLORATIONS
Tyrosine.....	Rouge grenadine, puis noir d'encre.
p-oxyphényléthylamine.....	Rouge grenadine, puis noir olivâtre (1).
-oxyphénylméthylamine.....	Jaune orangé, rouge orangé, puis marron clair.
p-oxyphénylamine.....	Orangée, rouge acajou, puis brune.
Acide p-oxyphénylpropionique.....	Jaune orangé, rouge grenadine, puis brune.
— p-oxyphénylacétique.....	Jaune, jaune orangé, puis brune.
— p-oxybenzoïque.....	(Faible) rose, orangée, puis jaune.
p-présol.....	Jaune, orangée, puis rouge.
Phénol.....	Jaune, orangée, rouge, puis brune.

Au contraire, la phénylalanine ², la phénylméthylamine, les acides phénylaminoacétique, phénylpropionique et phénylacétique, l'alanine, le glycolle, etc., n'ont donné aucune coloration.

Comme il est facile de le remarquer, les seuls de tous les corps examinés qui soient oxydables par la tyrosinase renferment un oxhydrile phénolique ; c'est donc sur ce point de la molécule que doit, vraisemblablement, porter l'oxydation diastatique. La grandeur et la nature de la chaîne latérale paraissent n'avoir, dans la limite des cas observés ³, qu'une influence secondaire ; pourvu que cette chaîne ne soit pas trop fortement acide ou basique, elle n'empêche pas l'oxydation. Aussi est-il possible de compliquer encore cette chaîne latérale sans enlever aux produits obtenus le caractère de l'oxydabilité diastatique.

L'éthyltyrosine :

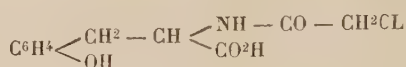


1. Von Fürth et Schneider ont fait réagir la tyrosinase extraite de l'hémolymphe des insectes sur la p-oxyphényléthylamine, mais comme ils ont opéré en milieu alcalin et que, dans ce cas, la substance s'oxyde déjà seule avec une extrême rapidité, ils ont obtenu une coloration jaune brun presque instantanée *Beitrag. z. chem. Physiol. Pathol.*, t. 1, p. 235 (1901)]. D'autre part, Bougault, cité par Harley [*Thèse Ecol. sup. Pharm.* Paris, 1900], aurait observé une coloration rouge, unique et persistante de l'acide p-oxyphénylpropionique par l'extrait glycériné de Russule.

2. La l-phénylalanine naturelle et r-phénylalanine synthétique.

3. Lorsque la chaîne latérale est aldéhydique (aldéhyde p-oxybenzoïque), il n'y a plus de coloration.

la chloracétyltyrosine :



et la glycylytyrosine :



sont oxydées et colorées par le ferment soluble avec une extrême facilité.

La première donne une coloration orangée, puis jaune orangé, jaune d'or et enfin une opalescence jaune sale, verdâtre. La deuxième, à la condition d'être transformée en sel neutre, car elle est fortement électro-négative, se colore en jaune d'or, en orangé foncé, puis en rouge intense. Enfin, la dernière devient jaune, puis orangée et, à la fin, d'un rouge acajou très foncé.

La glycylytyrosine est, comme on sait, un dipeptide, c'est-à-dire un des représentants les plus simples de cette longue série de corps, formés par l'association d'acides aminés, qui comprend, d'après E. Fischer ¹, toutes les matières protéiques. Elle est dédoublable, comme ces matières protéiques, par certaines diastases hydrolysantes et donne, dans ce cas, une molécule de glycocolle et une molécule de tyrosine. Aussi est-il nécessaire, avant d'admettre son oxydation directe par la tyrosinase, de s'assurer qu'elle ne subit pas de dédoublement préalable au cours de l'expérience.

On peut déjà observer que le polypeptide ne se colore pas exactement comme la tyrosine ; il devient jaune avant de passer au rouge orangé ; à la fin, la solution est rouge acajou et ne donne lieu à aucun précipité. S'il y avait dédoublement préalable, on devrait obtenir les mêmes colorations qu'avec la tyrosine, puis un précipité noir, car, l'expérience le prouve, le glycocolle ne modifie pas l'action de la diastase oxydante sur la tyrosine.

¹. *Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine* (Berlin, 1906).

Mais on peut démontrer l'oxydation directe de la glycylytyrosine en faisant agir sur ce polypeptide une tyrosinase exempte de ferment protéolytique. On se sert pour cela d'une solution aqueuse des diastases du son; par un chauffage modéré, on détruit la gluténase qui s'y trouve, en respectant, au moins en partie, la tyrosinase. ¹ Mieux encore, on prend la macération glycérinée, de *Russula Quelitii* Fr, qui, très riche en tyrosinase, ne dédouble pas la glycylytyrosine. Ce dernier point a été établi en faisant réagir dans un tube spécial à deux branches, complètement débarrassé d'oxygène, 1/2 c. c. de l'extrait glycériné sur 0^{gr},100 de dipeptide dissous dans 2 c. c. d'eau. Après 5 jours de contact, il n'y avait pas encore trace visible de tyrosine mise en liberté ². Lorsque, après cette attente, on a laissé rentrer l'air en ouvrant le tube, la coloration a commencé aussitôt, exactement avec la vitesse et les variations de couleur d'un mélange témoin, préparé au moment même, avec des quantités égales d'extrait glycériné et de dipeptide ³.

Les résultats obtenus au cours des recherches que je viens d'exposer, vont, une fois encore, à l'encontre du principe trop absolu de spécificité que l'on était en droit d'attacher il y a quelques années et que l'on attache encore assez généralement aujourd'hui aux actions diastasiques. Loin d'être limitée à la tyrosine, l'action oxydante de la tyrosinase s'étend, en effet, comme celle de la laccase ou comme l'action hydrolysante de la maltase, de l'émulsine et de la lipase, à tout un groupe de composés définis. Le réactif diastasique, dont l'action paraissait d'une spécificité absolue quand on se bornait à l'étudier dans ses rapports avec le principe immédiat attaquant à côté duquel on l'avait découvert, n'a plus qu'une action spécifique relative quand on vient à reconnaître la fonction ou la structure chimique qui rendent le principe immédiat tributaire de son activité.

Conformément à ces résultats, on ne devra plus, pour iden-

1. La tyrosinase du son ou thermostabilityrosinase est, en effet, contrairement à celle du champignon, très résistante à l'influence destructive de la chaleur.

2. La glycylytyrosine donne par hydrolyse 72 0/0 de tyrosine. Comme la solubilité de cette dernière dans l'eau froide est seulement de 0,05 0/0, on voit que le mélange aurait pu se prendre en masse solide si le dédoublement avait été tant soit peu avancé.

3. J'ai vérifié, d'autre part, l'inactivité complète de la laccase sur le dipeptide.

tifier un chromogène avec la tyrosine, se contenter de la double coloration en rouge orangé, puis en noir sous l'influence de l'air et de la diastase. La plupart des corps que j'ai examinés donnent la double coloration. Celle-ci est, il est vrai, presque toujours un peu différente, quelquefois jaune au début, d'une teinte tirant plus ou moins sur le brun ou sur l'acajou, à la fin. Mais on peut craindre l'atténuation de ces différences dans certains milieux complexes, déjà colorés ou mal connus. Il faudra donc toujours tenter la séparation du chromogène à l'état pur, le caractériser par quelques-unes de ses constantes physiques ou chimiques.

Ces résultats suggèrent aussi une réflexion à propos de certains produits d'oxydation fournis par la tyrosinase. Le jeu des réactions diastasiques auquel la matière protéique peut être soumise dans l'organisme doit tendre, le plus souvent, à donner la mélanine la plus simple, celle qui dérive de la tyrosine; mais il est possible et même probable que, d'autres fois, l'oxydation doit porter sur des termes moins avancés de l'hydrolyse, c'est-à-dire sur des polypeptides à tyrosine, ne renfermant déjà plus ou renfermant encore du soufre, contenant même quelquefois du fer, etc. L'étude des propriétés et de la composition des pigments mélaniques retirés des poils, de la choroïde, de certaines tumeurs, a fourni jusqu'ici des résultats assez divergents.¹ Ne semble-t-il pas que ces divergences, loin d'être toutes explicables par les difficultés d'extraction et de purification des matériaux d'études, tiennent quelquefois à la nature du dérivé protéique qui subit l'action de la tyrosinase?

Enfin, ces résultats soulèvent une question assez intéressante, celle de savoir si, dans les matières protéiques sur lesquelles n'agit pas directement la tyrosine, l'oxhydrile phénolique de la tyrosine est libre ou combiné. Contre la première hypothèse parlerait plutôt la manière assez générale avec laquelle l'organisme des animaux supérieurs neutralise à l'état de sulfoconjugués les corps phénoliques qu'on y introduit ou qui s'y forment par putréfaction intestinale ou autrement. En faveur de la seconde, au contraire, serait plutôt la production, par le tube digestif², d'une diastase dédoublant le salol en phénol et

1. Voir en particulier les recherches récentes de von Fürth et de Jerusalem. (*Beit. chem. Physiol. Pat.*, t. X, p. 131, 1907.)

2. A. BONANNI, *Jahresb. Tierch.*, t. XXIX, p. 402 (1899).

en acide salicylique, capable, par conséquent, d'hydrolyser un produit dû à la condensation d'un oxhydrile phénolique avec un carboxyle. Il paraît donc vraisemblable d'admettre, dans la matière protéique, un mode de liaison qui n'a pas encore été entrevu entre la tyrosine et les acides aminés.

Etudes épidémiologiques et prophylactiques du paludisme

Sixième campagne en Algérie — 1907 ¹

PAR LES D^{rs} EDMOND SERGENT ET ÉTIENNE SERGENT,

AVEC LA COLLABORATION DE MM. LES D^{rs}

AUCAIGNE, BONNAFÉ, BORIES, CLAUDE, CUBRY, DANVIN,
DESCRIMES, M. ELLIKER, D^{rs} GIUDICELLI, LÉCUYÉ, LEROY,
MARBOT, DE MOUZON, PAGÈS, PLANTIER, POMMAY, RIBET,
M. RIPERT, D^r SUSINI, M. TAILHANDIER.

Comme dans nos précédents rapports ², notre exposition comprendra une partie générale où seront résumés en un ordre synthétique les résultats de nos observations et expériences de l'année 1907, et une partie spéciale, donnant tous les détails de la campagne en courtes monographies de régions ou localités.

PARTIE GÉNÉRALE

SOMMAIRE

1^o Seront passées en revue, dans l'étude épidémiologique, ce que nous appelons les *conditions* d'une épidémie de paludisme :

Les gîtes à Anophélines (avec tout ce qui se rapporte à la Biologie de ces Moustiques);

Le réservoir de virus (les anciens infectés, principalement les indigènes).

Les sujets exposés, dont la race, le nombre, le genre de vie, la prospérité matérielle, les intérêts agricoles et l'importance économique sont à considérer dans toute entreprise prophylactique.

2^o L'étude prophylactique s'occupe des : *Difficultés de la prophylaxie*, leurs causes et leurs remèdes.

Procédés de la prophylaxie :

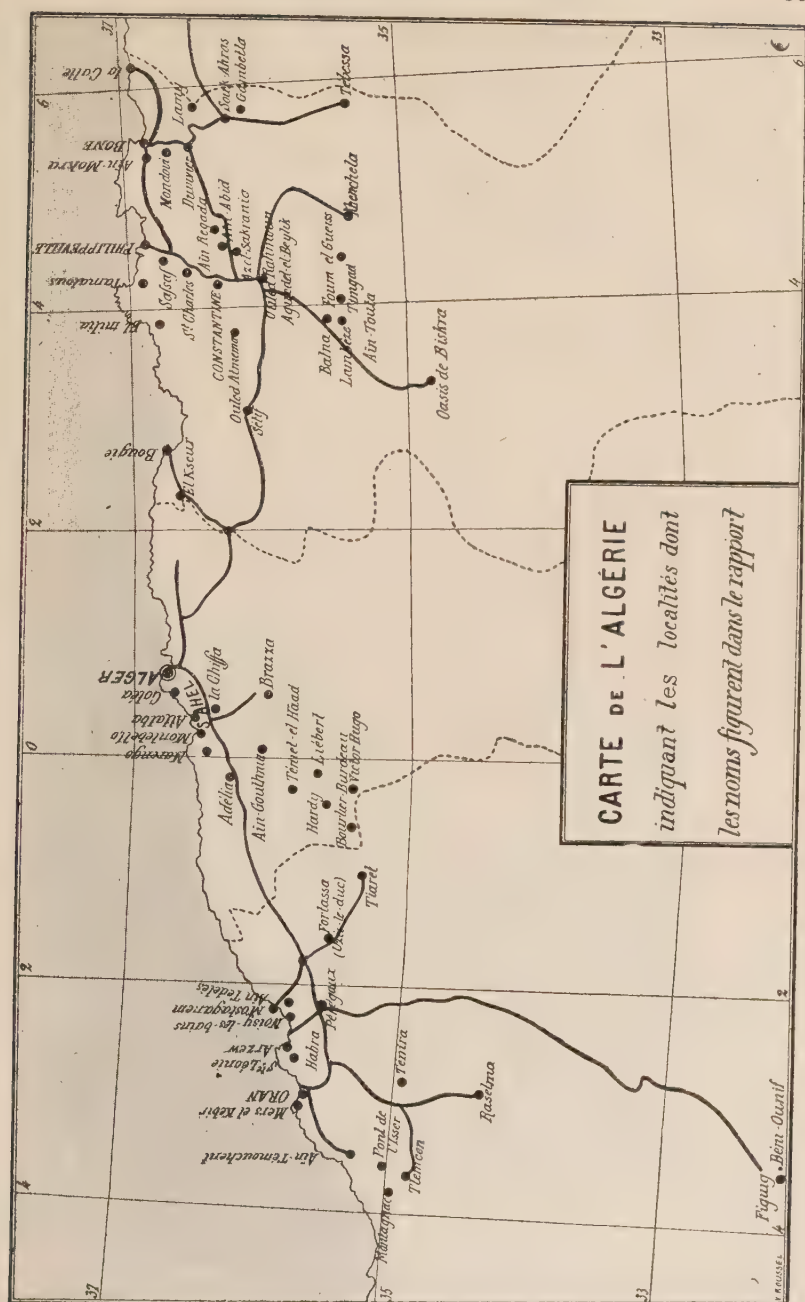
1. Eloignement des gîtes à Anophélines et du réservoir de virus;

2. Mesures antilarvaires, grandes et petites;

2 *bis*. Mesure contre les Moustiques adultes;

1. Campagne dirigée pour le compte du gouvernement général de l'Algérie, par ordre de M. le Gouverneur général Jonnart.

2. Voir *Annales de l'Institut Pasteur*, depuis 1902, et *Atti. d. Soc per gli Studi sulla Malaria*.



3. Quinisation ;

4. Défense mécanique (collective et personnelle) ;

Modes d'évaluation des résultats de la prophylaxie ;

Propagande antipaludique.

ETUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

En l'absence de statistique sérieuse, l'impression générale est que l'épidémie de 1907 a été au moins aussi grave que celle de 1906, dans le département de Constantine, tandis que, dans



Fig. 2. — Gîtes à *Pyretophorus myzomyifacies* entre les cailloux roulés de la berge d'une rivière.

les deux autres départements, l'épidémie de 1907 a été plutôt moins grave que celle de 1906.

I. GITES A ANOPHÉLINES

1^o *Pluies*. L'hiver de 1906-07 a été marqué, dans le département de Constantine, par des pluies abondantes suivies d'inondations exceptionnelles qui coïncident avec la création de gites inexistantes en 1906 (par exemple à Mondovi et à Gambetta) et avec l'apparition d'un paludisme assez grave;

2^o *Effet des orages sur les gîtes*. Les averses violentes du début de l'automne balaient en quelques instants les gites des lits d'oueds torrentueux (O. Chiffa), mais, dans la même région, n'ont aucune influence sur les gites des cuvettes des bas-fonds (lac Halloula);

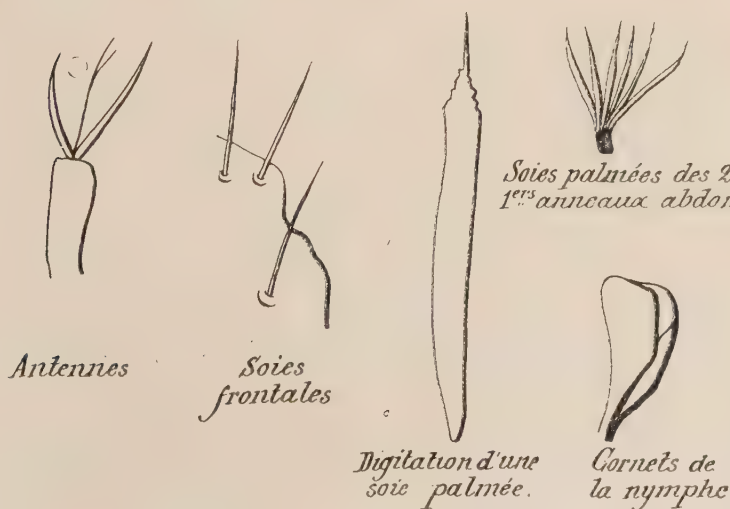


Fig. 3. — Détails de l'anatomie externe de la larve et de la nymphe de *Pyretophorus myzomyi facies*.

3^o *Suintements*. Les années très pluvieuses, comme celle de 1906-07, dans le département de Constantine, ne voient pas forcément se créer d'immenses marais, mais nous avons remarqué l'apparition d'une multitude de petits suintements, ne méritant même pas le nom de sources, qui amènent pourtant une redoutable augmentation des gites à Anophélines. Dans ces petits gites d'eau pure, les Algues et les Spirogyres croissent avec rapidité et fournissent une abondante nourriture aux larves; d'autre part, ces suintements ne contiennent naturellement pas de poissons : les larves peuvent donc pulluler en paix ! Le chercheur ne trouve parfois ces gites qu'à l'improviste : sous son pied un galet qui roule découvre un minuscule aquarium peuplé de larves et de nymphes (fig. 2);

4^o *Elevage des Anophélines*. Grâce à une nourriture très riche (macération de haricots verts dans l'eau), des larves d'Anophélines nées en aquarium de laboratoire sont arrivées à l'état adulte en 16 jours à la température moyenne de 26° à 29° à Alger;

5° *Refuges des adultes*. Nous insistons sur la prédilection des *Anopheles maculipennis* adultes pour les coins sombres des écuries. Ces Anophélines piquent d'ailleurs les animaux domestiques;

6° *Longueur du vol et transport*. A Montebello, où les mesures antilarvaires sont prises, les Anophélines adultes sont toujours très rares dans le village. A trois kilomètres, dans la ferme M (où aucune mesure antilarvaire n'est prise) pendant tout l'été, des myriades d'Anophélines adultes;

7° *Cheminement des Anophélines par étapes*. En automne 1907, des Anophélines apparurent dans les quartiers nord et ouest du village de Mondovi, à environ un kilomètre à l'intérieur de la zone où les mesures antilarvaires étaient parfaites. Ces quartiers sont ceux qui sont les plus rapprochés des gîtes non attaqués, et entre ces quartiers et ces gîtes sont échelonnées quelques constructions qui ont pu servir aux Moustiques de refuges d'étape;

8° *Effet du vent*. Les mesures antilarvaires exécutées dans un périmètre de 1,500 mètres de rayon à Mondovi et Penthièvre ont presque fait disparaître en été les Anophélines adultes de ces villages. La croyance, très répandue parmi les colons, du transport de ces Moustiques, par le vent, du lac Fetzara (à 20 kilomètres environ de Mondovi, à 40 kilomètres environ de Penthièvre), doit donc être considérée comme injustifiée;

9° *Pouvoir infectant des Anophélines*. Un jeune garçon de 10 ans a contracté une fièvre grave (parasite de la fièvre maligne) après avoir passé une seule nuit à l'embouchure de l'oued Zouhr (région d'El-Milia, département de Constantine) et après une incubation de 8 jours.

En 1906, un habitant de Teniet-el-Haad (localité saine) ayant passé une nuit à Liébert (très malsain cette année) est frappé huit jours plus tard de paludisme à allure grave.

Un Macaque, exposé aux piqûres de myriades d'Anophélines durant 12 jours à Ain-Dahlia, localité très fiévreuse près du lac Fetzara, n'a pas été infecté;

10° *Piqûre des Anophélines indolore*. Le 16 septembre 1907, à 5 heures du matin, nous avons observé cinq *Anopheles maculipennis* se gorgeant de sang à satiété sur la main d'un voyageur endormi dans un wagon de la ligne Bône-Ain-Mokra-Saint-Charles, au passage de la gare de l'Oued-Zied. On s'explique donc que des personnes de bonne foi affirment n'avoir pas été piquées par des Moustiques, bien qu'en réalité elles aient été piquées pendant le sommeil;

11° *Observations sur les Anophélines d'Algérie*. Nous avons remarqué que des Anophélines peuvent ne pondre à la fois dans le même gîte que quelques œufs (2 ou 3). Cette constatation peut faire comprendre la dissémination de la même espèce d'Anophéline dans une localité.

Nous donnons ci-dessous, d'après 16 spécimens arrivés à la période pré-nymphale, la description de la larve de *Pyrethrophorus myzomyfacies* Theob., qui n'avait pas encore été faite.

Aspect général. Corps trapu, brun clair ou jaune, mais avec la tête noire (aspect caractéristique).

Antennes. Epines terminales égales. 1 poil bifurqué à l'extrémité.

Soies frontales. Toutes simples.

Soies palmées. Rudimentaires sur les 2 premiers anneaux de l'abdomen, bien développées sur les autres anneaux. Présence d'un filament court. Rayon d'environ 66 μ . Longueur proportionnelle du filament à la longueur totale : en moyenne 1/8.

Habitat. Vallées montagneuses du Tell algérien. Lits caillouteux des oueds.

Saison. De fin juin à novembre. (Plus tardives que les larves d'*Anopheles maculipennis*).

Nymphe. — Cornets respiratoires trapus.

A Beni-Ounif de Figuig (Zousfana), M. le Dr FOLEY a étudié les Anophélines de la région qui sont tous des *Pyretophorus chaudoyei* Theob., mais présentant cette particularité de porter trois raies sur le *mesonotum* (comme *P. myzomyifacies*) au lieu de deux seulement comme les *P. chaudoyei* de Touggourt.

Nous avons capturé à Biskra un *Pyretophorus* présentant tous les caractères du *myzomyifacies*, sauf ceux des taches de la côte de l'aile. (Voir figure 4.)



Fig. 4. — Taches du bord de l'aile d'un *P. myzomyifacies* de Biskra.

Le distingué entomologiste M. CHEVREUX, près de Bône, a bien voulu nous communiquer que, durant tout l'hiver 1906-07, jusqu'en février, il a été attaqué par des *A. maculipennis* en plein jour. (Exemplaires capturés le 10 décembre à 11 heures du matin, le 29 décembre à 2 heures du soir, le 8 janvier, à 3 heures du soir, le 15 janvier après-midi, le 21 février à 1 h. 45 du matin.)

L'un de nous a été assailli le 27 décembre 1907, à 11 heures du matin, en plein soleil, au Hamma, près d'Alger, par 8 *Anopheles algeriensis*. Dans un bassin voisin rempli de Papyrus, les larves d'Anophélines étaient nombreuses. Nous avons constaté autrefois qu'elles y hivernent.

II. — RÉSERVOIR DE VIRUS

Comme les années précédentes, nous avons toujours trouvé une concordance parfaite entre les indications fournies par l'index endémique relevé tel que nous le préconisons par la palpation des grosses rates, et tous les autres renseignements que l'on peut obtenir sur l'intensité du paludisme en un lieu. Le

grand avantage de notre index endémique est de se baser sur un signe physique, que l'on peut même représenter par une figure, telle que les schémas reproduits ci-dessous. On peut ainsi conserver la notation exacte des états successifs d'une même rate à différentes époques et, par suite, constater d'un coup d'œil une amélioration, un état stationnaire ou une aggravation.

Les tableaux suivants résument nos recherches d'index endémiques

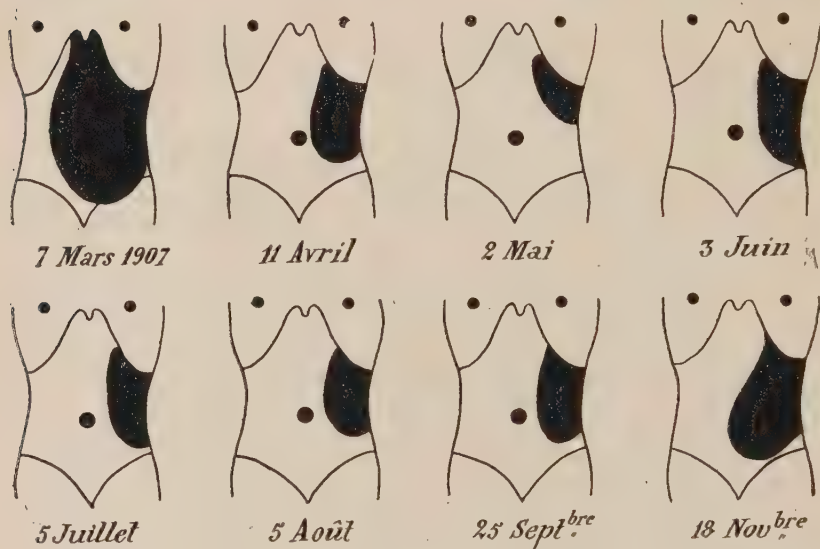


Fig. 5. — Variations du volume de la rate chez un jeune Européen de Montebello (P. B.) infecté depuis 14 ans, ne se traitant pas régulièrement par la quinine, cachectisé, et présentant des corps en pessaire et en demi-lune dans le sang

par les rates, en 1907, d'une part avant les chaleurs, d'autre part pendant et après les chaleurs.

La technique que nous avons décrite pour la palpation des rates (le sujet debout se penche en avant ¹⁾ nous donne toujours satisfaction, et a eu l'approbation de nombreux médecins qui l'ont adoptée.

1. « Penche-toi en avant » se dit, suivant les contrées, en arabe : *tati*, *tabess* (féminin *tebsi*), ou bien : *tekki rasek* (penche la tête), *ahoud rohak* (baisse ton corps).

En kabyle : *ikenou*, ou bien *taïnez*. A Figuig, les Berbères disent *iness*.

Index du début des chaleurs.

PROPORTION DES GROSSES RATES				POURCENTAGE
Enfants.	De 0 à 5 ans..	300/ 961	4112	3.334
	De 6 à 10 ans..	397, 1447		
	De 11 à 15 ans..	215/1126		
Adultes (au-dessus de 15 ans).....		430/	1.670	25,7 0/0
Total.....		1.542	5.204	29,5 0 0

Ces rates ont été palpées du 1^{er} mars au 1^{er} août, dans les localités suivantes :

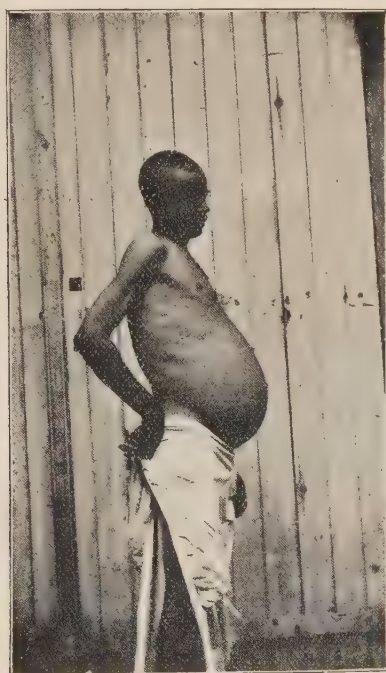


Fig. 6. — Grosse rate chez un indigène adulte (à Penthièvre).

Département d'Alger : Montebello, Marengo, El-Affroun, La Chiffa, Attatba, Oued-el-Alleug, Berbessa, Koléa, Boufarik, Blida, Bouinan, Birtouta, Gué-de-Constantine, Mahelma, Chebli, Arba, Sidi-Moussa, Cheragaś, Brazza ;

Département de Constantine : Mondovi, Barral, Penthièvre, Ain-Mokra, bords du lac Fetzara, Oum-Teboul, Roum-el-Souk, bords du lac Tonga,

Département d'Oran : Tourville, Sainte-Léonie, Kléber, domaine de l'Habra, Ain-Tedêlès et douars voisins, Pont-de-l'Isser, Saint-André-de-Mers-el-Kébir.

1° *Tableau des résultats des examens microscopiques
du sang de sujets habitant des localités paludéennes (jusqu'au
31 décembre 1907).*

La question de l'unité ou de la pluralité du paludisme ne sera résolue que lorsqu'on pourra étudier durant plusieurs saisons successives les parasites du paludisme, non pas seulement en un même lieu, mais *chez les mêmes individus*.



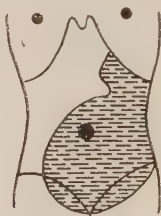
Fig. 7. — Grosses rates chez des enfants indigènes (de 5 à 7 ans) des bords du lac Fetzara (Ain-Mokra).

2^o Détail de technique : Mode de repérage des préparations. — Nous avons obtenu de bons résultats du mode suivant de repérage : A. On prépare à l'avance une provision de fragments de lamelles couvre-objets. Sur chaque fragment on dessine un très petit cercle : il suffit pour cela de faire une tache d'encre, de la laisser sécher, et d'en gratter le centre avec une épingle, on peut ainsi avoir un cercle aussi petit qu'on le désire. B. On assujettit la lame solidement sur la platine avec les deux valets. On place le point de la préparation à repérer au centre du champ du microscope. C. On remplace l'objectif à immersion par un objectif faible (n 4^o Stiasnne par exemple). D. On

dépose une goutte de baume de Canada sur la face du fragment de lamelle où est marqué le cercle (bien sec). On colle cette face sous la



Fig. 8. — Grosse rate étranglée par la constriction de la ceinture. (Enfant indigène des bords du lac Fetzara.)



Avril 1907

Fig. 9. — Schéma de la rate photographiée ci-dessus.

lame (en enlevant l'éclairage Abbé). On place le centre du cercle au centre du champ du microscope en faisant glisser la lamelle sur la face inférieure de la lame. Laisser sécher.

Pour retrouver le point repéré, placer le centre du cercle au centre du champ de l'objectif 4, puis examiner avec l'objectif fort.

2^o M. le Dr RIBET nous a montré à Perrégaux, département d'Oran, un cas de *bilieuse hémoglobinurique*, en novembre 1907. Nous résumons ci-dessous l'observation de M. Ribet :

Un colon de 24 ans, d'origine espagnole, né et ayant toujours vécu à Perrégaux, a été atteint il y a 7 ans d'une fièvre rémittente d'une durée de 3 mois. Au mois d'août 1907, il est allé travailler à « la Planète » qui est la localité témoin de la campagne antipaludique de l'Habra (voir ci-dessous), et y contracta une fièvre peu grave cédant à des doses de 50 centigrammes de quinine. Cette fièvre ne se montrait plus que par petits accès isolés, et ce colon était rentré dans la ville relativement saine de Perrégaux, lorsque, le 24 novembre à 4 heures du matin, sans qu'il ait absorbé depuis 1 mois et demi ou 2 mois, ni quinine, ni aucun autre médicament, il est pris d'un frisson violent avec vomissements bilieux, ictère, urines hémoglobinuriques, fièvre et courbature intense. Le foie et la rate sont tuméfiés (débordant d'un travers de doigt) et douloureux. La quinine est administrée seulement à partir du 26, à la dose de 50 centigrammes par jour, mais par prises fractionnées dans une potion à l'extrait mou de quinquina (8 grammes). Le 27, les urines ne sont plus hémoglobinuriques. Toutefois, l'état général empire, et, le 28, devient tout à fait misérable. Les urines étant tout à fait claires, M. Ribet fait une injection de 25 centigrammes de quinine, en sus de l'administration par la bouche de la dose journalière du médicament. Le malade meurt dans la soirée sans qu'il y ait eu de nouveau hémoglobinurie.

Cette observation, bien prise par le Dr Ribet, s'ajoute donc à celles déjà nombreuses qui montrent que la fièvre bilieuse hémoglobinurique vraie existe dans l'Afrique du Nord. Dans ce cas, la quinine ne paraît pas avoir été la cause déterminante de l'accès; bien plus, administrée avec autant d'à-propos que de prudence par le Dr Ribet, elle n'a pas causé de rechute d'hémoglobinurie. L'insuffisance hépatique était manifeste, et c'est elle qui a causé la mort.

L'examen du sang, prélevé le 28 novembre à 9 heures du matin, donne résultats suivants :

8,3 hématies pour un leucocyte.

Hématoblastes : 14,41 pour 100 hématies.

Hématies nucléées : 4,85 pour 100 hématies.

Polynucléaires : 61,04 pour 100 leucocytes.

Grands mononucléaires : 20,93 %.

Petits mononucléaires : 3,48 %.

Intermédiaires entre petits et grands mononucléaires : 14,53 %.

Pas de *Plasmodium* du paludisme.

3^o Les *corps en pessaire* et les *corps en demi-lune* ont été retrouvés encore assez communément dans le sang des paludéens cachectisés.

Nous avons vu 12 fois les corps en demi-lune et 11 fois les corps en pessaire sur 214 examens de sang de personnes habitant des localités paludéennes.

Nous avons vu, en particulier, les pessaires et les demi-lunes dans le sang d'un jeune Européen de 24 ans, habitant Montebello depuis 14 ans,

cachectisé depuis cette époque, réformé par le conseil de révision, et qui, malgré tous les conseils et l'exemple même d'indigènes, ne prend que très peu et très irrégulièrement la quinine. La figure 5 montre les variations du volume de la rate de ce jeune homme durant l'année 1907.

4^o *Action nulle de la salicine sur les Plasmodium.* — Expérimentation avec le Dr SERFATY (médecin de colonisation). Un cas de tierce bénigne à l'Hillil, (département d'Oran) n'a été traité par aucun médicament. On voit dans le sang d'assez rares grosses formes de tierce bénigne. Le malade prend (*per buccam*) 7 grammes de salicine en une fois. L'examen du sang est pratiqué 2, 4, et 16 heures plus tard : les grosses formes de tierce bénigne sont retrouvées en même nombre et même état.

5^o *Localisation du virus et de la virulence.* — On connaît une foule de localités où le paludisme sévit, avec une intensité particulière, alors qu'à une distance très proche, et dans une région de même structure, le paludisme est nul ou bénin. On peut considérer qu'il y a ainsi des aires bien limitées de diffusion d'un même virus. Cette localisation tient sans doute au peu de portée du vol des Anophélines, dont le terrain de parcours est, lui aussi, toujours restreint.

6^o *Endémie palustre grave, avec parasites rares dans le sang périphérique.* — Les 7 et 16 septembre, sur les bords du lac Fetzara (Tell bônois), l'index par les grosses rates est élevé : 37 rates hypertrophiées chez 39 examinés. La population n'est pas quininisée. On ne trouve que chez 4 personnes, sur 39, le *Plasmodium* de la tierce bénigne.

Au contraire, le 13 septembre, aux Ouled-Rahmoun (Hauts-Plateaux constantinois) nous trouvons 30 grosses rates chez 52 indigènes, mais 13 fois nous voyons des parasites : 11 fois ceux de la tierce bénigne, 2 fois celui de la tierce maligne, et 4 fois des corps en demi-luné.

7^o Nous avons observé chez des enfants indigènes paludéens de nouveaux cas, assez nombreux, des *macules* que nous avons signalées dans notre dernier Rapport¹. Rougeâtres, ne s'effaçant pas sous la pression du doigt, elles ressemblent à des piqûres de Puce, mais s'en distinguent par la localisation : cou et paupière supérieure. Les indigènes connaissent ces taches, qu'ils nomment *dî âdes*.

Notre confrère le Dr G. COLIX, bien connu comme savant arabisant, a bien voulu nous donner les renseignements suivants pour lesquels nous lui présentons tous nos remerciements : « Cette expression signifie littéralement *aux lentilles*; le mot « maladie » est ici sous-entendue, comme cela se produit la plupart du temps dans la terminologie nosologique des Arabes. Les mots *dî âdes* correspondent donc, comme formation et comme valeur, au terme de *lentigo*. »

8^o *L'importance du voisinage des indigènes* est mise en évidence par les chiffres suivants : Le 13 novembre 1907, l'index endémique est à Sainte-Léonie (département d'Oran) :

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXI, février 1907.

	Chez les Européens.	Chez les indigènes.
Enfants de { 0 à 5 ans.....	0/11	4/7
{ 6 à 10 —.....	1/30	7/7
{ 11 à 15 —.....	0/6	2/2
	<u>1/47</u>	<u>13/16</u>

Dans ce village, le réservoir de virus est donc presque uniquement formé d'indigènes.

9^o *Danger colporté par les émigrants kabyles.* — Nous avons signalé déjà

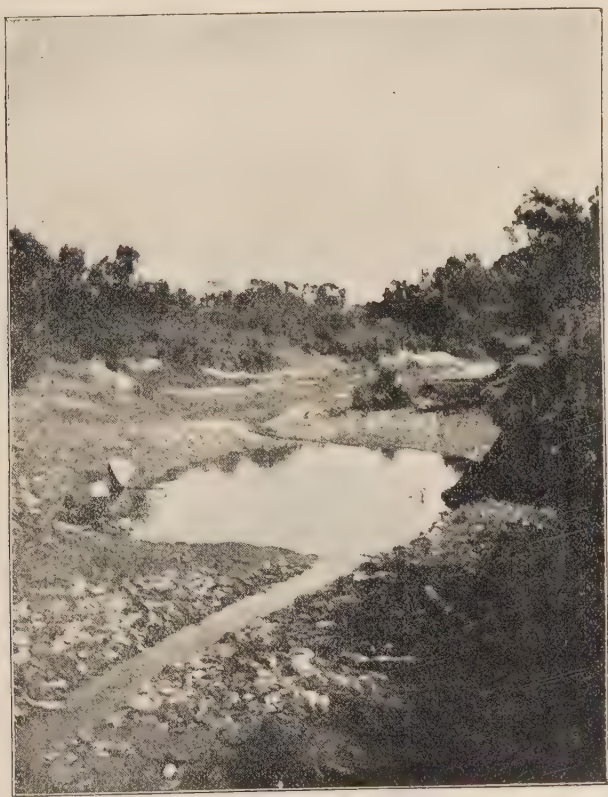


Fig 10. — Canaux d'évacuation de mares permanentes dans un bras mort de rivière (la Seybouse à Mondovi).

dans nos Rapports précédents que les bandes kabyles et marocaines qu descendent de leurs montagnes pour se louer pour les moissons et les vendanges s'infectent dans les plaines basses où la récolte mûrit tôt, puis, gagnant les plateaux élevés, où la moisson est tardive, y portent un virus d'autant plus dangereux qu'il n'est pas combattu par la quinine. A quinze jours de distance le passage de ces auxiliaires pourtant indispensables des travaux agricoles est marqué par l'éclosion de cas de fièvre dans les fermes

qui les emploient. Ces mêmes observations que nous avons faites dans les trois départements ont été faites indépendamment de nous par deux médecins de colonisation : le Dr DOMERGUE, dont le poste est Michelet (Kabylie du Djurdjura), et le Dr MEINARD, de Port-Gueydon (Kabylie).

III. — SUJETS EXPOSÉS

Paludisme des hauteurs. — Au sujet de l'épidémie de paludisme des hauteurs qui a sévi en 1904 et qui a frappé l'imagination des populations, nous ajoutons à l'hypothèse émise dans notre précédent Rapport ¹ cette réflexion que les habitants des hauteurs étant d'ordinaire peu frappés par le paludisme, lorsqu'un concours de circonstances spéciales fait éclater une épidémie parmi eux, leur maladie prend une allure plus dramatique, car ils ne lui opposent pas l'immunité relative que possèdent les habitants des plaines. Plusieurs médecins ont signalé que les habitants des hauteurs ont *davantage* souffert du paludisme en 1904 que ceux des plaines. Ces montagnards ont joué le rôle de sujets sains venant de pays salubres ; on sait que, de même, les Français nouveaux débarqués sont bien plus frappés que les colons algériens.

ÉTUDES PROPHYLACTIQUES

DIFFICULTÉS DE LA PROPHYLAXIE DU PALUDISME

Lorsque dans une localité on trouve une majorité d'ignorants, ou seulement parfois quelques personnalités remuantes opposées à toute entreprise nouvelle, ou bien intéressées à dénigrer les tentatives prophylactiques, il est très difficile d'instituer une campagne, car le succès dépend, dans une grande mesure, de la bonne volonté de tous. Il suffit aussi de quelques personnes bien disposées pour que la force de l'exemple permette des progrès extrêmement sensibles. Nous sommes heureux de constater que chaque année augmente le nombre des villages où les habitants s'intéressent vivement à la prophylaxie antipaludique (voir plus loin).

PROCÉDÉS DE LA PROPHYLAXIE

I. Eloignement du réservoir de virus et des gîtes

Nous n'avons pas rencontré en 1907 de cas où l'éloignement du réservoir de virus ou celui des gîtes aurait pu être réalisé

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXI, février 1907.

de façon pratique pour un village ou une agglomération importante.

II. Mesures antilarvaires.

1° *Très simples* sont parfois les mesures antilarvaires capables d'assainir un centre de nouvelle création. Exemple : village récent de Liébert, groupe de fermes projeté à Sakrania. (Voir plus loin les notes de MM. Tailhandier et Ripert.) Les Anophé-



Fig. 41. — Drainage efficace d'un sol marécageux par deux sillons tracés à la charrue (à Mondovi).

lines extrêmement nombreux qui assiégeaient la maison forestière du lac de Mouzaïa ont presque disparu en 1907, à la suite de mesures fort simples prises pour l'évacuation des eaux du lac par M. l'inspecteur adjoint de Peyerimhoff (voir plus loin) :

2° *Nécessité des pétrolages fréquents* à des intervalles de 15 jours, prouvée par la possibilité d'une vie larvaire très courte, même dans le Tell (voir plus haut, observations sur la vie larvaire) ;

3° *Nécessité des mesures antilarvaires précoces*. Elles ont été reconnues nécessaires à Mondovi (plaine de la Seybouse) dès la fin du mois de mars ;

4° Un bon moyen pour étendre le pétrole à la surface de

l'eau des marécages étendus inaccessibles consiste à faire traverser ces marécages par un troupeau de bœufs, après la projection de pétrole ;

5° On a réussi à empêcher la formation des gîtes « trous de sabots » laissés par le passage des troupeaux aux abreuvoirs, des fontaines, des oueds, et des gués, en creusant des fossés remplis de grosses pierres recouvertes de terre. Ce drainage rudimentaire assure la perméabilité constante de la couche superficielle du sol ;

6° M. Pellegrin a eu l'idée, suivie de plein succès, de drai-



Fig. 12. — Canal, gîte à Anophélines, au point où cesse le faucardement (à Mondovi).

ner les prairies submergées en y traçant à la charrue quelques profonds sillons bien dirigés ;

7° Nous constatons encore en 1907 que des ouvriers improvisés sont inaptes aux mesures antilarvaires. Ils doivent être éduqués par un moniteur au courant de la technique, qui se sert du FILET A LARVES avant et après les pétrolages. L'emploi de cet engin est d'une importance capitale. Le moniteur doit aussi observer des gîtes témoins non attaqués, de façon à se rendre compte lui-même de l'efficacité de son travail.

II bis. Mesures contre les adultes.

Nous avons continué la projection du pétrole, suivie de projection d'eau, dans les coins d'écurie, refuges de nombreux Anophélines.

M. PELLEGRIN a imaginé de flamber les Anophélines posés sur les plafonds au moyen de coton imbibé d'alcool et fixé au bout d'une perche. M. Pellegrin projette aussi de la poudre de pyrèthre, à l'aide d'un soufflet à soufrer la vigne, dans les recoins où se réfugient les adultes. On emploie en moyenne un gramme de poudre par mètre cube d'air. Les chambres étaient laissées fermées pendant une demi-heure après l'opération. Un laps de temps plus court ne suffit pas pour l'asphyxie des Anophélines. Ce dernier procédé a donné les meilleurs résultats à Mondovi et à Penthivère.

III. Quininisation.

Le nombre total des personnes quininisées régulièrement, *par des quininisateurs*, est de **2,130**.

Le nombre des personnes quininisées irrégulièrement, non par des quininisateurs, est de **1,690**.

Nous avons presque uniquement employé les dragées de bichlorhydrate de quinine de 20 centigrammes de sel dans 30 centigrammes de sucre, analogues à celles de l'Etat italien. Ce mode d'administration est universellement apprécié, et les dragées sont parfois réclamées avec insistance par les personnes traitées (villages de Tourville, Sainte-Léonie, etc.). Les dragées suffisent à toutes les éventualités, car si l'on a affaire aux cas où leur ingestion est impossible (enfants), en les jetant dans un peu d'eau, on obtient une solution immédiate.

Pour les jeunes enfants la poudre de quinine enrobée dans de l'huile a parfois été employée (Attatba).

Dans les champs de démonstration et dans les localités à réservoir de virus abondant, la distribution de la quinine a été confiée à des Européens : nous signalons les services rendus par M. Loup, ancien brigadier de gendarmerie, la population indigène étant très sensible au prestige des militaires.

Dans le domaine de l'Habra il est procédé à un essai inté-

ressant de quininisation journalière par des sœurs de charité.

En 1907 furent employés neuf quininisateurs européens (4 hommes, 5 femmes) du concours desquels nous n'avons qu'à nous féliciter.

Les institutrices et les instituteurs ont rendu de réels services à la quininisation partout où il a été fait appel à eux.

Nous nous sommes adressés aussi, en pays indigène, aux marabouts influents pour leur demander de conseiller à leur coreligionnaires l'usage de la quinine : Marabout ben Takouk

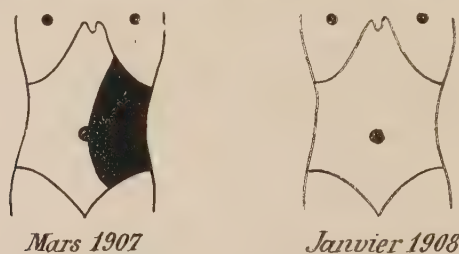


Fig. 13. — Résultat exceptionnel de la cure quinique sur le volume de la rate d'une femme indigène des Beni-Messous (D^r d'Alger).

à Aïn-Tedelès, vu par le D^r Descrimes ; Marabout si Mahmed, au Haouch-Touta, commune de Birtouta ; Marabout Belkacem à Kaala, commune de Birtouta ; Marabout Ahmed ben Salem à la fraction des Beni-Messous à Chéraga.

La quininisation a été journalière (20 centigrammes *pro die*) partout où ce fut possible : Tourville, domaine de l'Habra, Attatba, Chéragas, Penthievre, Mondovi.

Dans la Mitidja, et Sainte-Léonie, de petites provisions de quinine (20 à 30 dragées = 4 à 6 grammes) furent distribuées à intervalles de plusieurs semaines aux chefs de famille indigènes.

Nous avons obtenu de meilleurs résultats par la quininisation journalière que par la quininisation à intervalles éloignés. (Voir plus loin le tableau de la quininisation dans la Mitidja.)

Les docteurs Susini, Descrimes, Bonnafé, Cubry, de Mouzon ont procédé eux-mêmes à la quininisation des localités où ils dirigeaient la campagne antipaludique.

Le tableau qui suit montre que chez les *traités* par la cure quotidienne (sujets examinés avant et après la campagne) le nombre de rates améliorées est bien plus grand que celui des

rates aggravées, et que l'inverse s'est produit quand la quininisation a été irrégulière et surtout quand elle a été nulle. Le rapport $\frac{\text{amélioration}}{\text{aggravation}} =$ chez les traités régulièrement $\frac{115}{34}$, chez les traités irrégulièrement $\frac{36}{52}$, chez les non traités $\frac{6}{16}$.

Tableau des résultats de la quininisation sur le volume des rates.

	Amélioration.		Pas de modification.		Aggravation.	
	Restes normales.	Diminues.	Restes de même grosseur.	Restes normales de normales devenues hypertrophiques.	Augmentées.	
<i>Quininisation régulière :</i>						
Attatba.....	11	4	38	17	0	7
Mondovi.....	17	13	191	8	1	4
Penthièvre.....	7	4	28	6	3	1
Tourville.....	6	1	55	1	1	1
Sainte-Léonie.....	9	2	35	8	2	4
Chiffa (particulier)...	3	4	17	4	1	1
Beni-Messous.....	11	11	27	6	0	3
Habra.....	7	5	47	3	4	1
	71	44	438	53	12	22
<i>Quininisation irrégulière :</i>						
Montebello.....	3	5	44	10	3	8
Oued-Alleug.....	3	0	8	3	0	1
Brazza.....	1	0	7	1	0	1
Ain-Tedeles.....	2	2	21	12	4	12
Pont-de-l'Isser.....	2	2	21	8	4	3
Marengo.....	3	1	16	4	5	3
Liébert.....	3	2	15	2	1	1
El-Milia.....	5	2	45	8	2	4
	22	14	177	48	19	33
<i>Pas de quininisation :</i>						
Kléber.....	1	0	47	5	4	2
Barral.....	1	0	10	4	1	2
Ain-Tedeles (témoin)...	1	0	15	2	0	2
Planète.....	0	0	6	2	2	2
Chiffa (village).....	0	2	16	8	1	2
	4	2	94	21	8	8

Amélioration: $71 + 44 = 115$
 Aggravation: $12 + 22 = 34$

Amélioration: $22 + 14 = 36$
 Aggravation: $19 + 33 = 52$

Amélioration: $4 + 2 = 6$
 Aggravation: $8 + 8 = 16$

Voir plus loin pour le détail de la quininisation dans la plaine de la Mitidja.

IV. Défense mécanique.

L'application des grillages aux portes, fenêtres et che-

minées fait des progrès dans l'opinion publique. Leur emploi se généralise peu à peu.

La moustiquaire de lit constitue une mesure de préservation *parfaite* pour toutes les personnes suffisamment soigneuses.

MODES D'ÉVALUATION DES RÉSULTATS DE LA PROPHYLAXIE

Cette évaluation se fait grâce à l'observation de TÉMOINS. Témoins pour les mesures antilarvaires : comparaison du nombre des larves et des adultes dans les localités défendues et dans les non-défendues : Gambetta témoin de Mondovi. Ferme M. témoin de Montebello.

Témoins pour la quininisation : comparaison des pourcentages de printemps et d'automne, d'une part chez les traités, d'autre part chez les non-traités.

Pour apporter la plus grande rigueur dans l'évaluation des résultats de la quininisation, nous nous contentons de mettre en balance les améliorations et les aggravations des rates hypertrophiées, sans tenir compte des états stationnaires, bien que *l'absence d'une augmentation* dans le volume de la rate constitue un progrès chez des fiévreux.

PARTIE SPÉCIALE

I. La campagne antipaludique en Algérie se poursuit en premier lieu dans des « CHAMPS DE DÉMONSTRATION » destinés à montrer au public, par des leçons de choses, comment s'appliquent les principes complexes de la prophylaxie.

Des champs de démonstration ont été créés dans les trois départements : dans le département d'Alger, à Montebello ; dans le département d'Oran à Tourville et à Sainte-Léonie ; dans le département de Constantine à Mondovi et à Penthivière. Les mesures antilarvaires, la quininisation et, à Montebello, la défense mécanique sont établies et surveillées aussi bien que possible.

Ces champs de démonstration remplissent bien leur but, en fournissant à leurs surveillants le sens et l'habitude d'une bonne technique antipaludique, en même temps qu'ils prouvent au public l'efficacité des mesures prises.

Cette preuve étant faite, il fallait généraliser la lutte antipaludique en Algérie.

Une mesure d'ordre général consiste dans la diffusion de bonne quinine, à bon marché, sous la forme de ces dragées qu'une expérience de plusieurs années, se surajoutant à l'expérience de l'Etat italien, a prouvées tout à fait excellentes. Des dispositions propres à assurer cette diffusion de la quinine sont à l'étude en ce moment.

II. — POUR LA GÉNÉRALISATION DE LA LUTTE ANTIPALUDIQUE, ON A CHOISI, EN PREMIER LIEU, LA PLAINE DE LA MITIDJA. C'est dans cette plaine, riche mais encore insalubre par places, qu'en partant de l'ouest pour aller vers l'est, avec le concours de toutes les administrations et, en premier lieu, des Ponts et Chaussées, toutes les questions locales relatives au paludisme sont successivement étudiées et résolues dans la mesure du possible.

Le but poursuivi est l'assainissement du sol par les grandes mesures antilarvaires qui détruisent les gîtes à Anophélines partout où les intérêts agricoles et économiques en général viennent à l'appui des intérêts de la salubrité. Mais le but principal que l'on vise est la disparition du réservoir de virus, la guérison par la quinine de tous les anciens fiévreux. Pour aller au plus pressé, on commence par organiser cette quininisation

là où l'index endémique (grosses rates paludéennes) dépasse 15 0/0. Et pour favoriser cette entreprise d'extinction des foyers de paludisme, les petites mesures antilarvaires (extermination locale et temporaire des Moustiques) sont établies comme mesures accessoires dans les localités les plus infectées. Elles ont pour but d'empêcher les réinfections pour un temps, jusqu'à ce que la quininisation ait suffisamment réduit le réservoir de virus. Enfin les diverses administrations, dans ces localités infectées, donnent à leurs fonctionnaires et agents des grillages de toile métallique, ce qu'on peut appeler une protection de luxe, qui ajoute en même temps au confort. Chaque année, dans la Mitidja, s'amorcent de nouvelles tentatives de défenses antipaludiques auxquelles sont invités à s'intéresser et à prendre part les médecins et les principaux colons, qui doivent l'exemple. On peut dire qu'après les premiers tâtonnements, l'élan est donné.

III. — DANS LE RESTE DE L'ALGÉRIE, ET PRINCIPALEMENT SUR LES LIGNES DE CHEMIN DE FER, DES ENQUÊTES SONT FAITES PARTOUT OU LES AUTORITÉS LOCALES OU DES PARTICULIERS SIGNALENT UN PALUDISME VIOLENT. Dans ce cas, la généralisation de la lutte antipaludique est confiée aux médecins de colonisation dont chaque année de nouveaux sont associés à la campagne. Chacun d'eux est appelé à défendre un ou plusieurs centres de sa circonscription. Sur les chemins de fer, la création de techniciens spécialistes est poursuivie. Une telle généralisation doit être prudente, car la méthode est encore peu connue du public. Elle doit être appliquée, pour être efficace, avec soin et minutie, dans un milieu qui la comprenne et la facilite ¹.

1. Nous devons déclarer que, grâce à l'impulsion donnée par M. le Gouverneur général Jonnart, les différentes administrations nous prêtent chaque année un concours plus efficace. Nous nous plaisons à remercier la Commission du paludisme, en particulier son président, M. Boulogne, et son actif secrétaire, M. Maris, de leur collaboration très précieuse.

SOMMAIRE

I. — CHAMPS DE DÉMONSTRATION

	TÉMOINS
Montebello.....	Ferme M. Camp Halloula.
Tourville.....	} Kléber et fermes voisines.
Sainte-Léonie.....	
Mondovi.....	} Barral et fermes voisines.
Penthièvre.....	

Extension de l'antipaludisme.

II. — MITIDJA

	COMMUNES ET ÉTAT		Fonctionnaires défendus par les grillages.	Particuliers appliquant la prophylaxie.
	LOCALITÉS défendues.	LOCALITÉS non défendues.		
1 ^{re} section.	Montebello. Marengo. Attatba.	Bourkika. Ameur-el-Ain. El Affroun. Mouzaïville. Région de l'O. Djer Chiffa.	Montebello. El Affroun. Attatba. Camp Halloula	Chiffa. Tiktaka.
2 ^e section.	Blida (douars). Boufarik (douars). Birtouta (douars). Oued-el-Alleug (douars et village). Coléa (douars).		Birtouta. Oued-el-Alleug Berbessa.	
Sahel.	Chéragas (Beni Messous).	Zanaoua.		
3 ^e section. (Région témoin).		Arba. Eucalyptus. Rovigo. Sidi-Moussa. Baraki. Gué de Constantine. Boufarik. Baba-Ali. Chebli. Bouinan. Souma.		

III. — AUTRES LOCALITÉS FIÉVREUSES.			
COMMUNES ET ÉTAT		Fonctionnaires défendus par les grillages.	Particuliers appliquant la prophylaxie.
LOCALITÉS défendues.	LOCALITÉS non défendues.		
Brazza (Dr Susini).	Saint-André de	Département	Domaine de
Adélia (Dr Lécuyé).	Mers-el-Kebir.	Alger, 28 mai-	l'Habra.....
Liébert (Dr Aucain- gne et de Mou- zon).....	Noisy-les-Bains.	sons.....	Chemins de
Liébert (M. Ripert).	Béni-Ounif de Fi- guig.	Constantine,	fer.....
Baurlier-Burdeau.	Roum-el-Souk.	15 maisons..	
Taine.....	Oum-Teboul.	Département	
Victor-Hugo.....	Mechta-Tonga.	Oran, 5 mai-	
Montagnac (Dr Cu- bry).....	Lac Fetzara.	sons.....	
Pont de l'isser (Dr Leroy).....	Batna.	Gardes fores-	
Ain-Tedeles douars (Dr Descrimes).	Lambèse.	tiers.....	
El milia (Dr Bon- nafé).....	Timgad.	Maison fores-	
Sakrania (M. Tail- handier).....	Sidi-Mançar.	tière dulac de	
Gambetta.....	Aguedel-el-Beylik.	Mouzaïa.....	
	Tamalous.		
	Oued-Athménia.		

Le détail de cette PARTIE SPÉCIALE devant paraître dans une publication tirée à part, nous nous contenterons de donner ici les résultats obtenus dans les *Champs de démonstration* et dans la *Plaine de la Mitidja*.

I. — CHAMPS DE DÉMONSTRATION

I. — Village de Montebello.

4^e campagne. — 3 mesures sont appliquées : antilarvaires, quininisation, grillages.

Résultats. — I. Dans les 7 visites faites d'avril à novembre, on n'a jamais constaté la présence de larves d'Anophélines dans la zone pétrolée.

Témoins : Constamment, aux mêmes visites, on trouva de très nombreuses larves d'Anophélines dans les canaux situés hors de la zone pétrolée.

II. En juin et en octobre, quelques rares Anophélines adultes ont été capturés dans les « refuges » des adultes (recoins sombres des écuries). Les habitants ont déclaré n'avoir jamais été tourmentés par ces Insectes.

Témoins: Pendant tout l'été, jusqu'en fin octobre, la ferme M., située à 2 kilomètres de la périphérie de la zone pétrolée, a servi de refuge à des essaims innombrables d'*Anopheles maculipennis*.

III. Sur 65 Européens indemnes et sensibles qui ont passé l'été 1907 à Montebello, 0 cas de première invasion. (Sur ces 65 personnes, 4 nouveau-nés.)

Sur 13 Européens anciens infectés (dont 3 provenant en 1907 d'autres localités), 5 ont eu des rechutes (dont deux graves, nécessitant les soins de M. le Dr Giudicelli, médecin de colonisation, résidant à Marengo).

Témoins: Dans les environs immédiats de la zone protégée : ferme G., à 3 kilomètres au sud-ouest ; ferme M., à 3 k. 500 à l'est (défense mécanique incomplète, pas de mesures antilarvaires), sur 7 Européens jusque-là indemnes, 4 cas de première invasion.

Au camp Halloula (des Ponts et Chaussées), établi à 5 kilomètres du village de Montebello, au moins 4 cas de première invasion chez des Européens : un de ces cas fut grave (parasite de la tierce maligne dans le sang). Outre ces cas observés sur place, 7 ouvriers durent être hospitalisés à l'hôpital de Coléa, pour fièvre.

IV. Les résultats de guérison obtenus par la quininisation sur l'infection invétérée des indigènes ne sont pas aussi bons que les résultats de la prévention chez les Européens. Ils sont indiqués par le tableau suivant, montrant les modifications constatées dans le volume des rates du printemps à l'automne.

AMÉLIORATION		PAS DE MODIFICATION		AGGRAVATION	
Redevenues normales.	Diminuées.	Restées normales.	Restées de même grosseur.	De normales devenues hypertrophiées.	Augmentées.
3	5	44	10	3	8

II. — Tourville.

2^e campagne, avec la collaboration du Dr Bories. 2 mesures sont appliquées : antilarvaires, quininisation.

Résultats. — I. Durant les 4 visites faites d'avril à novembre, on ne put jamais constater la présence de larves dans la zone pétrolée.

Témoins : A quelques mètres en amont de la limite des faucardements et pétrolages, les larves pullulèrent tout l'été.

II. Quelques adultes furent capturés au milieu de l'été dans les habitations de la partie supérieure du village : c'est à la suite de cette constatation que les faucardements furent poussés 200 mètres plus loin qu'en 1906.

Témoins : Anophélines adultes extrêmement nombreux tout l'été à la ferme C. (à 3 kilomètres du village) et dans l'habitation du barragiste.

III. Sur une population de 1,000 habitants (13 nouveau-nés) un seul cas de paludisme de première invasion (forme bénigne rapidement guérie), chez un enfant nouveau-né habitant près de la voie du chemin de fer qui transporte souvent, ainsi que nous l'avons constaté, des Anophélines venant des plaines fiévreuses de la Macta. Le train, au niveau de l'habitation de ce nouveau-né, ralentit sa marche en passant sur le pont de l'embouchure de l'oued Magoun. Aucun autre cas de première invasion, ainsi qu'il résulte de nos investigations poursuivies de maison en maison, et des renseignements donnés par M. le Dr Bories, médecin communal d'Arzew.

Témoins : ferme C. (à 3 kilomètres de Tourville) : sur 3 personnes nouvelles venues indemnes (dont un nouveau-né), 2 cas de première invasion, dont l'un suivi de mort (hémoglobinurie).

IV. Les tableaux suivants donnent les variations de volume des rates, du printemps à l'automne, chez les habitants de Tourville et chez les habitants de Kléber, village moins malsain que Tourville, mais le seul de la région (sans compter Sainte-Léonie, défendu cette année) qui puisse servir de « témoin ».

A Tourville, résultats bons : 7 améliorations contre 2 aggravations, 56 états stationnaires. A Kléber (témoin) au contraire, 2 améliorations contre 4 aggravations, 52 états stationnaires.

	AMÉLIORATION		PAS DE MODIFICATION		AGGRAVATION	
	Redevenues normales.	Diminuées.	Restées normales.	Restées de même grosseur.	De normales devenues hypertrophiées.	Augmentées.
A Tourville. ..	6	1	55	1	1	1
A Kléber (tém.).	2	»	47	5	4	»

III. — Sainte-Léonie.

1^{re} campagne, avec la collaboration du Dr Bories. 2 mesures sont appliquées : antilarvaires, quininisation.

Résultats. — I. Durant les 4 visites faites d'avril à novembre, on ne put jamais constater la présence de larves dans la zone pétrolée.

Témoins : larves nombreuses en aval et au barrage.

II. Adultes très rares à Sainte-Léonie durant l'été 1907, de l'aveu des habitants : nous ne pûmes jamais en capturer en 1907.

Témoins : Adultes très nombreux à la ferme C. à 3 kilomètres et chez le barragiste (mêmes témoins que pour Tourville).

III. Sur 300 habitants, 0 cas de première invasion.

Témoins : les mêmes que pour Tourville (voir plus haut).

IV. — *Tableau des variations des rates à Sainte-Léonie. Résultats bons : 11 améliorations contre 6 aggravations (43 états stationnaires).*

AMÉLIORATION		PAS DE MODIFICATION		AGGRAVATION	
Rates redevenues normales.	Diminuées.	Restées normales.	Restées de même grosseur	De normales devenues hypertrophiées.	Augmentées.
9	2	35	8	2	4

En automne 1907, l'index est donc de 16/60. En automne 1906, il était de 31/49. Le progrès est manifeste.

IV. — Mondovi.

1^{re} campagne, avec la collaboration du Dr Marbot. 2 mesures sont appliquées : antilarvaires, quininisation.

Résultats. — I. On ne put jamais constater la présence de larves d'Anophélines âgées de plus de 15 jours dans la zone pétrolée.

Témoins : Grosses larves et nymphes très abondantes en amont et en aval de la zone pétrolée. Comme moyen de contrôle sur place, on a laissé pousser pendant quelques jours les herbes des bords du canal sur une longueur de 200 mètres; les larves y ont pullulé aussitôt.

II. Pas d'Anophélines adultes *en été* au village. Le 22 octobre (jour d'orage : vent et pluie venant du nord-ouest), irruption d'Anophélines adultes dans les locaux de la gare (voir le plan). Successivement, ces Insectes envahirent les jours suivants les premières maisons du quartier ouest, puis les autres quartiers.

Il est probable que les gîtes (non pétrolés) producteurs de ces Anophélines ont été constitués par la partie du canal située au nord, à 1,800 mètres de la gare. Entre cette limite et la gare s'élèvent trois habitations : les distances respectives comprises entre la limite de la zone pétrolée, chacune de ces habitations et la gare sont de 400, 300, 500, 600 mètres : ces habitations forment autant d'étapes successives qui ont pu permettre aux Anophélines d'envahir peu à peu les maisons de Mondovi.

Témoins : Anophélines adultes extrêmement nombreux pendant *tout l'été* à la cave Guébar (3 kilomètres), ferme Belair (à 900 mètres), à la ferme Langlois (3 kilomètres) et à Barral-village (6 kilomètres).

III. Sur une population européenne de 773 personnes, indigène de 543 personnes (22 nouveau-nés), 3 cas de première invasion en automne (1 adulte, 2 nouveau-nés).

En automne, rechutes nombreuses, coïncidant avec une chaleur anormale.

Témoins : Village de BARRAL, à 6 kilomètres au sud (3 nouveau-nés); 3 cas de première invasion (1 chez un adulte, 2 chez des enfants, et 2 chez des nouveau-nés).

Ferme Gu. à 3 kilomètres au nord. 4 nouveau-nés, frappés tous 4 d'infection primitive. 1 cas d'hémoglobinurie chez un ancien infecté.

Ferme Ch. de G. à 5 kilomètres environ au nord. 9 nouveau-nés, frappés tous 9 d'infection primitive.

Ferme L. à 5 kilomètres au sud-ouest. 1 nouveau-né présente un cas de première invasion.

Tableau des variations des rates à Mondovi et à Barral (témoin).

A Mondovi, résultats bons, 30 améliorations contre 5 aggravations, 199 états stationnaires. A Barral (témoin), au contraire, 1 amélioration contre 3 aggravations, 14 états stationnaires.

	AMÉLIORATION		Pas de MODIFICATION		AGGRAVATION	
	Redevenues normales.	Diminuées.	Restées normales.	Restées de même grosseur.	De normales devenues hypertrophiées.	Augmentées.
A Mondovi.....	17	13	191	8	1	4
A Barral (tém.).	1	»	10	4	1	2

V. — Penthivère.

1^{re} campagne, avec la collaboration du Dr Pagès. 2 mesures sont appliqués : antilarvaires, quininisation.

Résultats. — I. Maximum de l'âge des larves, constaté dans l'intervalle des pétrolages : 20 jours.

Témoins : Grosses larves et nymphes en dehors de la zone pétrolée.

II. Pas d'Anophélines adultes en été. Fin octobre, apparition de ces Insectes dans les habitations du village (les mesures antilarvaires avaient été très restreintes : 2 kilomètres de longueur).

Témoins : Anophélines adultes très nombreux tout l'été à la ferme.

III. Sur 208 Européens (8 nouveau-nés), 2 cas bénins de première invasion (une grande personne et un nouveau-né). L'examen systématique du sang permet seul de faire ce dernier diagnostic chez un nouveau-né qui ne présentait comme symptôme clinique, d'après la mère, que quelques bouffées de chaleur de temps en temps (grosses formes de la tierce bénigne dans le sang).

Témoins : Ferme au N.-E. à 12 kilomètres environ : (gîtes : mares d'un ruisseau voisin) 1 cas au moins sur 2 Européens.

Tableau des variations du volume de la rate chez les habitants (réservoir de virus). Résultats bons : 11 améliorations contre 4 aggravations, 34 états stationnaires.

AMÉLIORATION		PAS DE MODIFICATION		AGGRAVATION	
Redevenues normales.	Diminuées.	Restées normales.	Restées de même grosseur.	De normales devenues hypertrophiées.	Augmentées.
7	4	28	6	3	1

Témoin : Village de Barral. (Voir plus haut.)

II. — PLAINE DE LA MITIDJA

Voir les deux cartes qui suivent.

QUININISATION DANS LA MITIDJA ET LE SAHEL ALGÉROIS

		Index endémique avant les chaleurs.										Après les chaleurs.									
		ENFANTS					ADULTES					ENFANTS					ADULTES				
		De 0	De 6	De 11	Total	De 0	De 6	De 11	Total	De 0	De 6	De 11	Total	De 0	De 6	De 11	Total				
Quintinisés irrégulièrement ou à intervalles éloignés	1 ^{re} section.	0/40	9/17	17/20	31/47	8/30	39/77	77	39/77	4/40	6/17	12/20	22/47	6/30	28/77	77	28/77	Index endémique réduit de 49,6 0/0 à 35,1 0/0			
	Sahel.	2/5	3/5	2/10	7/20	3/10	12/30	30	12/30	2/5	2/5	2/10	6/20	4/10	10/30	30	10/30				
		3/6	8/10	10/12	24/28	10/30	31/58	58	31/58	2/6	4/10	6/12	12/28	8/30	20/58	58	20/58				
							82/165	165	82/165						58/165	165	58/165				
Quintinisés irrégulièrement	4 ^{re} section.	2/10	6/9	12/24	20/43	6/30	26/73	73	26/73	2/10	7/9	13/24	22/43	27/30	49/73	73	49/73	Index endémique augmentant de 35,03 0/0 à 37,3 0/0			
		0/4	4/5	10/22	11/31		11/31	31	11/31	1/4	2/5	10/22	13/31		13/31	31	13/31				
		8/49	13/22	16/28	37/69	17/51	54/120	120	54/120	3/16	13/32	15/28	33/76	12/27	45/123	123	45/123				
	2 ^o section.	4/17	9/21	8/17	21/33	7/36	28/91	91	28/91	3/21	7/31	14/45	69/93	0/13	15/82	82	15/82				
Non quintinisés.		2/12	11/14	4/12	17/38	2/5	19/43	43	19/43	0/12	8/13	4/12	9/37	4/5	10/42	42	10/42	Index endémique augmentant de 35,03 0/0 à 37,3 0/0			
		0/16	5/24	6/17	14/37	5/45	16/102	102	16/102	2/13	7/27	1/13	10/53	2/26	12/79	79	12/79				
		17/61	32/60	19/60	68/171	39/114	107/285	285	107/285	9/31	35/53	15/39	53/87	18/37	77/171	171	77/171				
							261/745	745	261/745						221/591	591	221/591				
Non quintinisés.	4 ^{re} section.	3/32	5/14	6/14	14/90		14/90	90	14/90	5/9	16/46	13/47	34/102	3/40	34/102	102	34/102	Index endémique augmentant de 18,1 0/0 à 23,9 0/0			
		2/5	2/7	0/3	4/45	4/7	8/22	22	8/22	1/7	6/9	3/3	10/49		13/29	29	13/29				
		2/32	3/19	0/14	5/65	0/3	5/67	67	5/67	3/28	0/38	4/13	3/81	2/5	3/81	81	3/81				
		3/6	3/8	2/3	8/17	0/2	8/19	19	8/19	3/7	4/6	2/5	6/48	2/5	8/23	23	8/23				
Non quintinisés.		3/20	7/13	4/8	14/41	0/2	14/41	41	14/41	3/15	6/14	3/7	14/36		14/36	36	14/36	Index endémique augmentant de 18,1 0/0 à 23,9 0/0			
		1/20	3/16	1/4	5/40	0/10	5/50	50	5/50	2/14	1/5	1/5	4/34		4/34	34	4/34				
		1/19	9/28	7/12	17/59	3/9	20/68	68	20/68	2/18	2/13	6/18	10/49	0/11	10/60	60	10/60				
	3 ^o section.	0/5	5/18	0/5	5/24	1/74	16/102	102	16/102	1/2	0/15	0/7	1/24	4/29	11/53	53	11/53				
Non quintinisés.		4/30	6/29	9/27	19/78	17/85	36/163	163	36/163	7/43	12/34	4/24	33/98	7/22	30/120	120	30/120	Index endémique augmentant de 18,1 0/0 à 23,9 0/0			
		10/39	17/45	10/25	37/109	4/33	41/114	114	41/114	4/32	10/35	3/31	29/98	8/22	37/120	120	37/120				
		2/19	9/35	5/19	6/76	7/55	23/131	131	23/131	2/15	0/18	5/44	6/28	8/28	11/72	72	11/72				
	Sahel.	0/21	4/47	1/48	7/46	2/40	9/198	198	9/198	0/14	1/7	4/7	2/28	2/32	4/60	60	4/60				
Non quintinisés.		0/3	2/5	3/5	5/13	0/40	5/23	23	5/23	1/3	2/5	3/5	6/13	0/10	6/23	23	6/23	Index endémique augmentant de 18,1 0/0 à 23,9 0/0			
							199/1098	1098	199/1098						195/813	813	195/813				

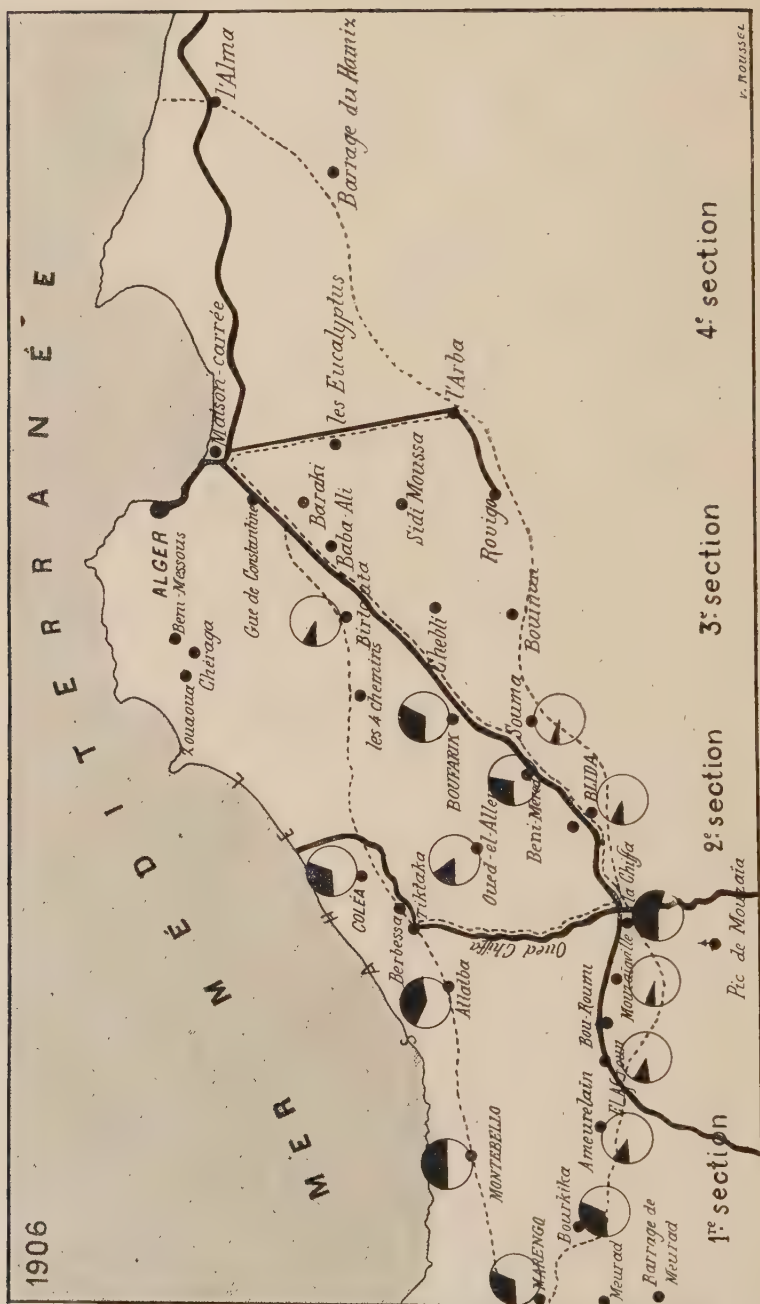


Fig. 16. — Index endémiques de la plaine de Mitidja en automne 1906.

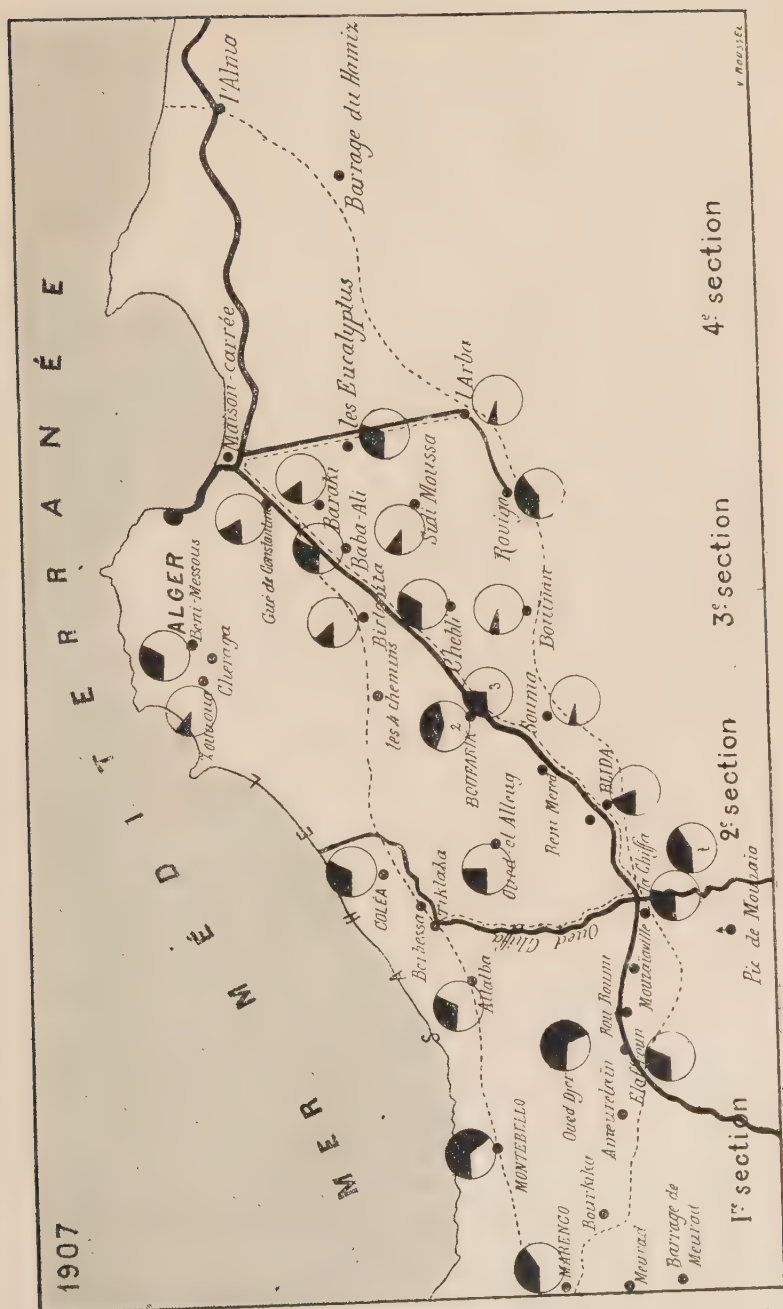


Fig. 17. — Index endémiques de la plaine de la Mitidja en automne 1907.

PROPAGANDE

Comme les années précédentes, on a distribué un grand nombre de *Recommandations* pour se défendre contre le paludisme (illustrées);

De *Conférences*;

De *Petites Affiches* (à signaler celles des chemins de fer de l'État);

De *Planches murales*.

Nous signalerons en particulier l'heureuse propagande faite par les instituteurs (par exemple M. Mattera, directeur d'école à Mondovi) et par l'inspecteur antilarvaire, M. Pellegrin, qui a su convaincre un grand nombre de personnes par ses démonstrations ingénieuses.

Le Gouvernement Général a couvert les frais d'une série de Conférences, que nous avons faites à notre laboratoire, à Alger, à six médecins de colonisation, sur la Technique microscopique de l'étude du paludisme, et sur l'antipaludisme. Nul doute qu'en permettant ainsi à nos confrères de l'intérieur de venir se mettre au courant des techniques nouvelles, l'administration ne rende un grand service au progrès des conceptions scientifiques, et, par suite, de la pratique médicale elle-même.

Sur la façon dont la tyrosinase agit sur la tyrosine racémique.

PAR MM. GABRIEL BERTRAND ET M. ROSENBLATT

Les expériences de Pasteur et, depuis, celles de beaucoup d'autres savants, ont montré que les cellules vivantes peuvent se comporter d'une manière différente avec les deux composants, droit et gauche, d'une substance racémique, par exemple, que le *Penicillium glaucum* consomme beaucoup plus vite le sel ammoniacal de l'acide tartrique droit que celui de l'acide tartrique gauche.

D'autre part, les faits découverts dans le domaine de la chimie biologique confirment chaque jour davantage la supposition que les cellules vivantes agissent sur la matière à l'aide de réactifs particuliers ou diastases. Il fallait donc s'attendre à trouver une relation entre la structure de ces diastases et celle des composés optiquement actifs qu'elles ont pour objets d'attaquer.

A ce point de vue, E. Fischer a fait la première observation importante¹. Il a trouvé que les divers glucosides naturels et artificiels du sucre de raisin se laissent partager en deux séries d'après la façon dont ils réagissent avec la maltase et avec l'émulsine. Tous ceux de ces corps qui appartiennent au type de l' α -méthyl-glucoside sont hydrolysés par la maltase et résistent à l'action de l'émulsine. Tous ceux, au contraire, qui sont construits sur le type du β -méthyl-glucoside sont hydrolysés par l'émulsine et restent inattaqués quand on les soumet à l'action de la maltase. Il semble que les deux ferments solubles aient une structure asymétrique différente, en rapport avec la structure asymétrique des glucosides α et β qu'ils sont capables d'hydrolyser.

Des faits analogues mais moins réguliers ont été signalés aussi par E. Fischer, en collaboration avec Bergell et avec Abderhalden², dans l'hydrolyse des polypeptides par les diastases protéolytiques.

1. *Zeischr. f. physiol. Chem.*, t. XXVI, p. 60 (1898).

2. FISCHER et BERGELL, *Ber. chem. Ges.*, t. XXXVII, p. 3103 (1904). FISCHER et ABDERHALDEN, *Zeitschr. physiol. Chem.*, t. XLVI, p. 52 (1905).

Il nous a paru intéressant de rechercher dans les réactions oxydasiques s'il existait également une relation entre l'activité du ferment soluble et la structure asymétrique de la substance soumise à la réaction.

Nous avons utilisé pour cela la tyrosine racémique ou *dl*-tyrosine, préparée suivant la méthode de Erlenmeyer jun. et Halsey¹ améliorée par E. Fischer², en réduisant l'acide *p*-oxy- α -benzoïlamino-cinnamique par l'amalgame de sodium, puis en saponifiant la *dl*-benzoïltyrosine obtenue avec de l'acide chlorhydrique. Sur cette tyrosine de synthèse nous avons fait agir la tyrosinase, principalement sous forme de macération glycérinée de *Russula Queletii* Fr.

L'expérience montre d'abord que la tyrosine racémique est complètement transformée en mélanine par la tyrosinase³.

On a dissout 0^{gr},100 de *dl*-tyrosine dans 50 cent. cub. d'eau, ajouté 5 cent. cub. de macération diastasique et 5 gouttes de CaCl² au dixième. Après 24 heures de contact, pendant lesquelles l'oxydation a été favorisée par le passage d'un courant d'air, on a évaporé le liquide à consistance de sirop, ajouté plusieurs volumes d'alcool et laissé déposer. La mélanine recueillie à la centrifuge et mise à bouillir, à plusieurs reprises, avec de l'eau a donné, après filtration, un liquide presque incolore, renfermant à des traces près, la tyrosine non attaquée. On a ramené ce liquide au volume de 40 cent. cubes, puis on l'a additionné de tyrosinase (4 cent. cubes) et traité exactement comme la solution primitive. Cette fois la transformation a été complète : le liquide d'épuisement du précipité mélanique n'a donné par évaporation aucun cristal de tyrosine⁵; il n'a fourni, d'autre part, aucune réaction colorée ni avec la tyrosinase, ni avec le réactif de Millon.

1. *Annal. d. Chemie*, t. CCCVII, p. 438 (1899).

2. *Bericht. Chem. Gesellsch.*, t. XXII, p. 3638 (1900).

3. Dans un mémoire de la *Zeitschr. f. physiol. Chemie* qui vient de paraître (t. LIV, p. 337, 1908), Abderhalden et Guzzenheim signalent que « la *d*-tyrosine, non encore observée avec certitude dans la nature, est attaquée aussi par la tyrosinase, cependant beaucoup plus tard que la *l*-tyrosine. Il est difficile de décider, ajoutent-ils, si la *d*-tyrosine employée était tout à fait pure et ne contenait véritablement pas de *l*-tyrosine. »

4. Pour éviter qu'une partie de la mélanine passe en solution, on ajoute à l'eau distillée un peu de chlorure de calcium, p. ex. un demi-millième.

5. Mais seulement un faible résidu sirupeux formé des substances, insolubles dans l'alcool, introduites par la macération glycérinée.

Au cours de cette transformation, il n'y a pas de séparation de la tyrosine droite d'avec la tyrosine gauche. L'oxydation diastasique porte, du commencement à la fin, avec la même intensité, sur les deux antipodes optiques.

Nous l'avons constaté en traitant la tyrosine racémique par une quantité de tyrosinase insuffisante pour tout détruire : la partie échappée à l'oxydation était encore racémique.

L'expérience a été faite avec trois grammes de *dl*-tyrosine. On a dissous la substance dans un litre et demi d'eau bouillante, laissé refroidir vers 30 degrés et ajouté 160 cent. cubes de macération glycinée de Russule. Cette macération avait été préalablement additionnée de 10 0,0 de chlorure de calcium au dixième et filtrée. D'après nos expériences préliminaires, le tiers environ de la tyrosine devait rester inattaqué. On a mis le mélange dans un bain maintenu à +30 degrés et l'on a fait passer un courant d'air pendant 24 heures. L'oxydation étant alors terminée, on a concentré dans le vide, à consistance de sirop clair, ajouté 400 cent. cubes d'alcool à 96 0/0 et abandonné à la cristallisation pendant une quinzaine d'heures, en agitant de temps en temps.

Le dépôt mixte de mélanine et de tyrosine a été recueilli par centrifugation, lavé à l'alcool à 80 0/0 et traité, à plusieurs reprises, par l'eau bouillante renfermant quelques gouttes de solution de chlorure de calcium. L'épuisement a été poursuivi jusqu'à ce qu'une petite partie du liquide filtré ne donnât plus aucune réaction colorée avec la tyrosinase. On a eu, en tout, près de 2 litres de liquide. Celui-ci a été amené dans le vide à 50 cent. cubes environ que l'on a mélangé d'un volume d'alcool. Après quelques heures, on a recueilli à la trompe la tyrosine tout à fait blanche qui s'était séparée et, après l'avoir lavée avec de l'alcool à 20 0/0, on l'a séchée et pesée. Il y en avait 0^{gr},944.

L'eau-mère alcoolique avec le liquide de lavage ont été concentrés à nouveau dans le vide, à consistance d'extrait pâteux. On a ajouté de l'alcool à 30 0/0, afin de dissoudre le chlorure de calcium et d'autres impuretés, puis on a filtré et lavé comme ci-dessus le dépôt de tyrosine. On a recueilli ainsi encore 0^{gr},132 de cristaux à peine colorés.

Chacune des deux fractions de tyrosine régénérée a été dis-

soute alors dans l'acide chlorhydrique normal, en quantité suffisante pour faire 25 c. c. On a ajouté un peu de charbon de sucre, filtré et examiné au polarimètre, dans un tube de 0^m,20 de longueur. Le pouvoir rotatoire a été rigoureusement nul avec chacune des fractions.

On pourrait supposer que l'oxydation simultanée des deux antipodes optiques de la tyrosine est due à la présence, dans l'extrait glycéринé de Russule, de deux tyrosinases énanthiomorphes, en quantités égales. Une telle coïncidence quantitative serait curieuse. Mais il n'en est rien ; il n'y a, en réalité, qu'une seule espèce de tyrosinase.

On peut le démontrer en faisant agir comparativement un même volume du liquide diastasique, d'une part, sur un excès de tyrosine gauche naturelle et, d'autre part, sur un excès de tyrosine racémique ; puis, quand l'oxydation est terminée, en pesant les mélanines précipitées.

S'il y avait deux sortes d'oxydases, on devrait obtenir, chacune agissant pour son compte, deux fois plus de mélanine avec la tyrosine racémique qu'avec la tyrosine gauche. Or, on en obtient, au degré près d'approximation, le même poids dans un cas et dans l'autre.

Nous avons traité parallèlement et, cela, en suivant en tous points la technique exposée plus haut, 1 gramme de *l*-tyrosine, obtenue par digestion trypsique de la fibrine et 1 gramme de *dl*-tyrosine de synthèse. Pour chaque oxydation, on a employé 50 c. c. de macération diastasique, préalablement additionnés de 5 c. c. de CaCl² au dixième et filtrés. La mélanine, recueillie après épuisement par l'eau et séchée à + 110°, pesait :

avec la *l*-tyrosine : 0^{gr},282

— *dl*-tyrosine : 0^{gr},314

Dans une autre expérience comparative, avec des quantités un peu différentes de substances, on a obtenu en mélanine :

avec la *l*-tyrosine : 0^{gr},203

— *dl*-tyrosine : 0^{gr},191

Il n'y a donc, dans la Russule, qu'une seule espèce de tyrosinase, agissant aussi bien sur la tyrosine droite que sur la tyrosine gauche.

Ce résultat pouvait d'ailleurs être prévu, d'après la façon dont le ferment soluble se comporte vis-à-vis de divers com-

posés voisins de la tyrosine ¹. Le ferment oxyde tous ceux de ces composés qui renferment un oxhydrile phénolique, sans que la nature ou même l'absence de la chaîne latérale intervienne dans le phénomène, sinon d'une manière accessoire. Ce n'est donc pas une question relativement minime de symétrie dans la chaîne latérale qui pouvait rendre la tyrosine attaquable ou non par le ferment soluble. Il y a, dans l'action de la tyrosinase sur la tyrosine, non pas une relation stéréochimique, mais une relation fonctionnelle.

Cette conclusion ne saurait être opposée à celle que E. Fischer a tirée logiquement de ses recherches sur l'hydrolyse diastatique des glucosides et des polypeptides : elle se rapporte, en effet, à un type de réactions tout à fait différent.

D'un autre côté, il ne faudrait pas croire non plus que la différence des réactions diastatiques entre seule en ligne de compte. Les glucosides dérivés du nitrile phénylglycolique droit sont hydrolysés par l'émulsine des amandes aussi bien que les glucosides dérivés du nitrile phénylglycolique gauche. A moins d'admettre la production de deux diastases énantiomorphes par les amandes, on a là un exemple de réaction hydrolysante où, comme dans le cas de la tyrosinase et de la tyrosine, la relation entre le ferment soluble et les substances attaquées est d'ordre fonctionnel plutôt que stéréochimique.

La spécificité des diastases reconnaît des degrés et dépend, sans doute, de causes très différentes.

1. GAB. BERTRAND, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXLV, 1352 (1907).

Voiraussi: R. CHODAT, *Arch. Sc. physiq. nat.*, t. XXIV, p. 172 (1907), et ABDERHALDEN et GUGGENHEIM, *Zeitschr. physiol. Chem.*, t. LIV, p. 331 (1908).

Des leucocidines et hémolysines chez les anaérobies

PAR PHILIPPE EISENBERG (DE CRACOVIE)

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Dans le processus de l'infection, dans cette lutte qui s'engage entre le microbe infectant et l'organisme à infecter, ce ne sont pas seulement les moyens de défense de ce dernier qui méritent notre attention, mais aussi et au même degré le microbe avec tout l'ensemble de ses aptitudes pathogènes, qui constitue ce que nous appelons sa virulence. Les recherches expérimentales sur le mécanisme et les variations de la virulence ainsi que diverses hypothèses émises sur ce point (surtout celle de Kruse et Bail) prouvent que c'est là un problème des plus importants dans la pathogénie des infections. Étant donné le rôle prédominant que joue la phagocytose dans la défense de l'organisme infecté, on pouvait s'attendre à ce que fût dirigée, contre elle en premier lieu, l'action nocive du microbe, qui s'établit et se multiplie dans l'organisme.

Déjà, dans son étude magistrale sur la maladie des Daphnies, où il a signalé pour la première fois l'importance de la phagocytose dans le processus de l'infection et de l'immunité, Metchnikoff annonce un fait de cet ordre. Dans le cas d'infection mortelle, il voit des leucocytes au voisinage des blastomycètes se dissoudre et disparaître, ce qu'il attribue à une sécrétion nocive des blastomycètes pour les leucocytes; sécrétions que nous appelons aujourd'hui leucocidine. Ensuite, beaucoup d'auteurs ont décrit des altérations morphologiques des leucocytes au cours des diverses maladies infectieuses, soit spontanées, soit expérimentales, altérations probablement dues à l'action de l'agent infectieux. Il serait trop long de les résumer ici, on en trouvera une analyse assez complète dans le travail de Helly.

La bactériologie moderne tendant vers une analyse expérimentale de la pathogénie des infections, on a essayé de mettre en évidence *in vitro* l'action nocive exercée par les microbes sur les leucocytes, et c'est à ces tentatives qu'il nous faudra

consacrer quelques remarques. En se servant du procédé d'immersion imaginé par Ranvier, Maurel s'est occupé de la fonction leucocytaire de microbes, tels que la bactériidie charbonneuse, le streptocoque, le staphylocoque, le bacille de Clado, le bacille typhique et celui de la tuberculose, et à laquelle il attribue un grand rôle dans l'issue mortelle de ces infections. Dans une publication récente, il démontre que les leucocytes, après avoir englobé des bacilles tuberculeux, subissent une dégénération¹ qui n'est pas causée par l'englobement d'une culture morte ou atténuée et regarde les leucocytes humains comme réactif de la virulence de ce bacille. Le même fait a été confirmé en ce dernier temps par Calmette, d'après lequel le leucocyte est tué par les poisons tuberculeux que sécrètent ses hôtes (p. 497). Parmi les poisons leucocytaires d'origine bactérienne, c'est celui du staphylocoque qui, sous le nom de leucocidine a été le plus étudié par divers auteurs: il suffira d'énumérer les noms de Van de Velde, Denys et Van de Velde, Borissow, Marwedel, Bail et surtout le travail très documenté de Neisser et Wechsberg. Ces travaux ont établi les altérations morphologiques produites par la leucocidine, son action *in vitro* sur les leucocytes, les conditions de reproduction dans l'animal infecté aussi bien que dans les cultures et enfin la possibilité d'obtenir par immunisation une antileucocidine. Des modifications analogues ont été ensuite observées chez les cobayes dans l'infection pyorganique par Metchnikoff et étudiées d'une façon plus détaillée par Gheorghewsky. Enfin, faut-il citer les recherches de Kiener et Duclert sur le *M. tetragenus* et celles de Helly, pour la plupart morphologiques, sur l'action leucocidique des staphylocoques, streptocoques, bactériidies charbonneuses, du colibacille, des bacilles typhique, diphtérique, pneumonique et tuberculeux, en cultures entières ou filtrées. L'observation unique, que je pus trouver dans la littérature sur l'action leucocidique d'un anaérobie a été faite par Kamen qui, en se servant de la méthode bioscopique de Neisser et Wechsberg, l'a démontrée dans les cultures filtrées du *B. perfringens* (*B. phlegmones emphysematosæ* Fraenkel-Welch).

C'est au cours des recherches sur la phagocytose *in vitro* du bacille du charbon symptomatique et du vibrion septique que

1. Fait constaté antérieurement par Borrel.

j'ai pour la première fois remarqué l'action leucocidique de ces microbes. Dans l'étude de cette action, je me suis servi du procédé imaginé par Wright et appliqué par lui et divers autres auteurs aux recherches sur les opsonines. On se procure des globules blancs humains en laissant couler du sang d'une petite piqûre d'un doigt dans l'eau citratée (solution à 1,5 0/0 de citrate de soude dans l'eau physiologique), en raison de

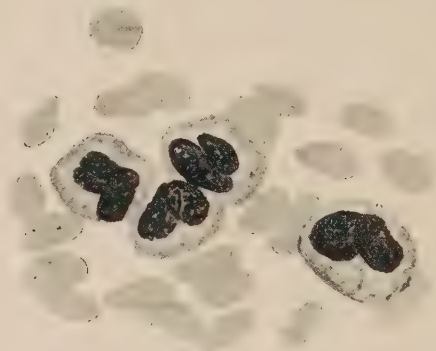


Fig. 1. — Dégénération des leucocytes polynucléaires (sang humain).

20-30 gouttes de sang pour 10 c. c. d'eau citratée. Après avoir bien mélangé, on centrifuge pendant 10-15 minutes à la centrifuge électrique (vitesse moyenne), on décante le liquide surnageant les globules, on le remplace par la même quantité d'eau physiologique, puis, après avoir mélangé, on centrifuge de nouveau pendant 10 minutes. Après quoi on décante soigneusement le liquide surnageant (en prenant garde de ne pas

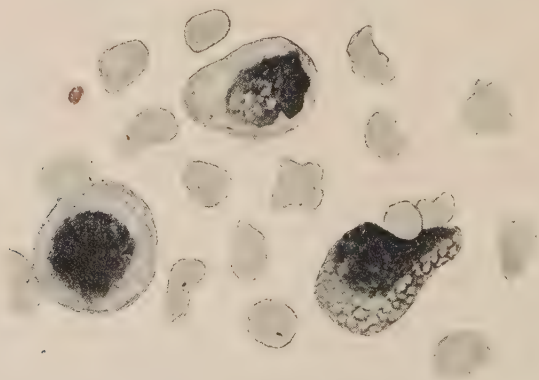


Fig. 2. — Dégénération plus avancée.

remuer les globules¹, la couche supérieure des globules rouges se montre très riche en leucocytes et c'est elle qui est utilisée pour les expériences. Pour se procurer des globules blancs du cobaye, il faut ajouter au sang, pauvre en polynucléaires, de l'exsudat péritonéal prélevé 5 heures après une injection de bouillon ordinaire ou du sérum de cheval; ce mélange est traité comme il a été décrit plus haut. Chez le lapin, c'est l'exsudat pleurétique obtenu par injection intrapleurale de la gluten-caséine (18-24 heures d'avance) qui est ajouté au sang. Pour rechercher l'action leucocidique des cultures, soit entières, soit centrifugées, soit enfin filtrées¹, on procède de la façon suivante : à l'aide d'une petite poire en caoutchouc adaptée à l'extrémité large d'un tube capillaire on aspire dans celui-ci les globules jusqu'à une marque tracée sur le tube, on laisse entrer une petite bulle d'air, après quoi on aspire de nouveau la culture jusqu'à la même marque. En aspirant les deux colonnes dans la partie large du tube on les mélange, puis on les laisse descendre dans la partie capillaire dont l'extrémité libre est fermée à la lampe. Le mélange effectué de cette manière est porté à l'étuve à 37° C.; après 1 à 2 heures, on ouvre l'extrémité fermée et on examine le contenu en goutte suspendue ou bien on l'étale sur une lame dépolie à l'aide du papier d'émeri, comme on le fait pour les préparations de sang. C'est le bord libre de cet étalement qui contient la plupart des leucocytes. Les préparations fixées à l'alcool méthylique pendant 1-2 minutes sont ensuite colorées à la fuchsine phéniquée diluée au 5^e ou au 10^e pendant 20 à 30 minutes, ce qui donne des images très nettes. Pour voir plus de détails cytologiques, on peut se servir de la coloration de Leishman ou bien de préférence du bleu de Marino.

S'il y a une action leucocidique, ce sont surtout des polynucléaires, sur lesquels elle porte, les lymphocytes aussi bien que les macrophages n'offrant pas de modifications appréciables. On voit alors, en goutte suspendue, les leucocytes perdre leurs

1. Mes recherches m'ont démontré que les filtres (bougie Chamberland) retiennent la plus grande partie de la substance active (dans une expérience, par exemple, l'activité de la culture filtrée était 200 fois moindre que celle de la culture centrifugée). Des constatations analogues ont été faites pour la toxicité de ses cultures par Leclainche et Vallée, et par Schattenfroh et Grassberger. C'est pour cela que, pour la plupart, je me suis servi des cultures débarrassées des microbes par centrifugation (5-6 heures à grande vitesse).

mouvements, s'arrondir et devenir homogènes, les granulations se raréfient et se réunissent en un point, le noyau perd sa polymorphie, devient rond et clair et se présente comme une vésicule vide au milieu de la cellule ronde. Sur les préparations colorées on voit la diminution du nombre des granulations, les lobes du noyau soudés en une masse arrondie aux contours peu nets, prenant mal les couleurs. Si on prolonge l'action de la

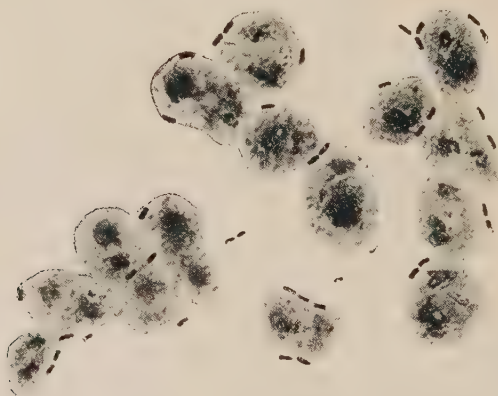


Fig. 3. — Bacilles accolés aux leucocytes.

leucocidine ou bien si celle-ci est très prononcée, elle peut aboutir à une désagrégation presque complète du globule, qui devient extrêmement altérable par la pression mécanique. Parfois, si l'on se sert d'une culture entière, on voit des leucocytes dégénérés entourés de bacilles dont aucun pourtant n'entre dans la cellule, constatation qui a été faite à propos du pneumocoque par Rosenow. Ces lésions rappellent tout à fait celles que produit la leucocidine staphylococcique et celle du bac. pyocyanique.

Les mêmes modifications ont été constatées par Wolff dans certaines pleurésies humaines et par Weil et Nakayama à propos de l'action de l'agressine du *B. subtilis* sur les leucocytes du cobaye ¹.

La description donnée plus haut se rapporte aux globules de

1. Il s'agit ici évidemment d'une action leucocidique et l'inhibition de la phagocytose n'est probablement pas spécifique. Il faut cependant remarquer qu'avec l'échantillon qui a servi aux expériences de V. et N. et qui m'a été obligeamment fourni par M. le Dr Weil, je ne pus jusqu'à présent reproduire les lésions décrites par ces auteurs ni avec les leucocytes du cobaye ni avec ceux de l'homme.

l'homme ou de lapin, les globules du cobaye ne présentant que très rarement des modifications morphologiques appréciables. Pour mettre en évidence les changements subis par ces globules en présence de la leucocidine, je les soumettais à une épreuve biologique, c'est-à-dire qu'après un contact d'une à deux heures, j'y ajoutais une émulsion des staphylocoques dans un sérum normal frais (de cobaye ou de lapin) et j'examinais, après un séjour d'une demi-heure à l'étuve, le degré de phagocytose. Comme on le sait par les recherches de Wright, les globules normaux phagocytent dans ces conditions d'une façon très remarquable; tandis que chaque altération des globules se traduit par une diminution ou une disparition de la phagocytose.

Après avoir constaté l'action leucocidique du bacille du charbon symptomatique et du vibron septique, il fallait rechercher les conditions dans lesquelles ces bactéries produisent leur poison, et dans ce but je les ai cultivées d'après

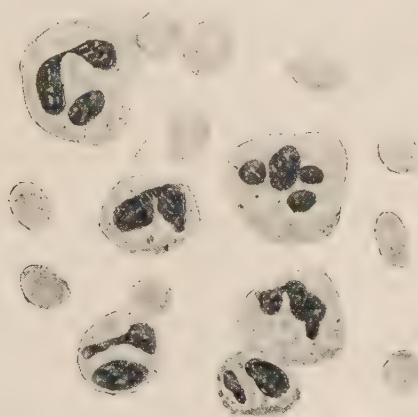


Fig. 4. — Contrôle. — Polynucléaires intacts.

les différentes méthodes préconisées pour la culture de ces anaérobies. C'est ainsi que j'ai employé le bouillon Martin en tube vaseliné (d'après Legros) ou en tube cacheté (d'après Rosenthal), le bouillon simple ou le bouillon Martin additionné de sang ou de sérum de cobaye, de lapin ou de cheval dans des pipettes en boule en faisant le vide à la trompe. A côté de ces procédés j'appliquai aussi la culture aérobie soit en bouillon

simple en tube étroit (d'après Rosenthal), soit en bouillon avec des morceaux d'organes ou de pommes de terre stérilisés ou non (d'après Tarozzi, Wrzosek et Harras), soit en bouillon additionné de sang ou de sérum de cobaye, de lapin ou de cheval ou de liquide d'ascite humain. On a aussi des résultats positifs avec les cultures aérobies de nos microbes en symbiose avec le *B. subtilis* ou *B. prodigiosus*, d'après le procédé employé par Debrand pour la préparation de la toxine tétanique. Comme résultat général de ces investigations, je peux dire qu'avec chaque procédé on arrive à obtenir une production de leucocidine et que l'abondance et la vitesse de cette production sont proportionnelles aux conditions de croissance et de vitalité que trouve le microbe dans la culture. Ce sont surtout les milieux additionnés de volume égal ou du cinquième de sang ou de sérum de cobaye ou de lapin qui se prêtent le mieux à la production de la leucocidine, en même temps qu'ils donnent un très bon développement microbien. Dans des conditions favorables on peut déjà, après 18 heures de culture, obtenir une remarquable quantité de leucocidine, ce qui plaide en faveur de la thèse que la toxine est une sécrétion vitale du microbe, car il est peu vraisemblable qu'après un temps si court la désagrégation des microbes ait déjà eu lieu dans la culture. Quant à la leucocidine staphylococcique, elle apparaît dans les cultures au quatrième jour. (Neisser et Wechsberg), celle du bacille pyocyanique a été constatée dans les cultures sur gélose de vingt-quatre heures, elle présente donc une analogie étroite avec notre poison. Le maximum de toxicité est atteint au bout de 5-10 jours de culture, selon la rapidité et la richesse de pullulation. L'activité de notre toxine est assez grande, les cultures pouvant être diluées au 20^e, 40^e et même au 80^e T, sans perdre leur efficacité leucocidique. Comme la leucocidine staphylococcique, notre poison leucocytaire est thermolabile; elle est détruite par un chauffage d'une demi-heure à 50°-55° C (la première température n'étant pas toujours suffisante pour le détruire complètement). La leucocidine staphylococcique, d'après Neisser et Wechsberg, est détruite par un chauffage de 20 à 50° C; cette légère différence tient probablement à ce que notre méthode est plus sensible que celle de ces auteurs, car elle met en jeu une quantité

beaucoup moindre de leucocytes et démontre encore la présence de traces de leucocidine. Notre leucocidine se conserve assez bien, si on la garde en tube scellé, dans lequel on a eu soin de faire le vide, et à basse température; de telle façon on peut voir son activité inaltérée, même après des mois, sans y ajouter d'agent conservateur. J'ai même observé que la leucocidine n'avait pas disparu dans un tube de bouillon contenant un morceau de foie ou de rate de cobaye ensemencé depuis 2 mois en culture aérobie et gardé à la température de la chambre.

La stabilité relative de la leucocidine des anaérobies la distingue de la leucocidine staphylococcique, qui s'affaiblit assez vite même à la glacière, pour disparaître définitivement après quelque temps de conservation. L'action la plus nuisible sur notre poison est exercée par le contact de l'air; ainsi si l'on étale le liquide en couche mince sur le fond d'un matras d'Erlenmeyer et si on laisse pendant quelques jours à l'étuve de 37° C, la leucocidine devient complètement inactive. Il serait intéressant de voir si le poison inactivé de cette façon garde sa propriété d'entrer en combinaison avec les globules blancs sans les modifier, c'est là un phénomène décrit pour différentes toxines par Ehrlich comme transformation de toxine en toxoïde. On peut mettre en évidence une telle modification de deux façons : ou bien on démontre qu'il faut la même dose d'anti-toxine pour neutraliser une dose de toxine active ou affaiblie. Ou bien on constate, que la toxine inactivée a une action inhibitrice sur l'action de la toxine active. Mes tentatives dirigées vers ce dernier point sont restées sans résultat jusqu'à ce jour, tandis qu'elles ont donné un résultat positif quant à l'hémolysine comme on le verra plus loin.

Jusqu'à présent nous nous sommes occupés de la leucocidine seulement comme d'un produit élaboré dans nos cultures, mais il est facile de comprendre, que si elle n'était que cela, l'intérêt qui s'attache à elle serait médiocre. La question principale est évidemment de savoir si elle est aussi produite dans l'animal infecté et si elle joue quelque rôle dans la pathogénie des infections provoquées par nos microbes. Si l'on examine à cet égard diverses descriptions anatomo-pathologiques de ces infections, on trouve parfois mentionnées des lésions des leucocytes, sans que les auteurs y insistent beaucoup. Ainsi dans

L'étude magistrale du charbon symptomatique donnée par Arloing, Cornevin et Thomas nous trouvons notés « des amas, de globules rouges ou de leucocytes ratatinés » (p. 50) et « une poche remplie de pus grumeleux ou de cellules lymphatiques mortes » (p. 52). Ruffer en introduisant du premier vaccin du charbon symptomatique sous la peau des lapins, trouve que « beaucoup des leucocytes ont péri dans la lutte, comme on le voit clairement d'après les signes de dégénérescence qu'ils manifestent » (p. 677). Naturellement on ne trouve pas toujours cette destruction ou dégénérescence des leucocytes, divers facteurs entrant en jeu. Tout d'abord la virulence du microbe infectant et l'intensité du processus local, qui en dépend, peuvent se traduire par l'apparition ou la non apparition de ces modifications comme on le verra plus tard. Ensuite, il ne faut pas oublier que la sensibilité des leucocytes des diverses espèces animales varie et, en conséquence aussi, le degré des lésions qu'ils offriront.

Nous avons vu que les leucocytes de cobaye qui ne présentent que très rarement des lésions morphologiques manifestes sont néanmoins influencées par la leucocidine. Enfin — et c'est là une circonstance de très grande importance — les choses ne se passent pas *in vivo* comme dans le tube à essai; les leucocytes étant doués d'une grande sensibilité vis-à-vis des agents, qui menacent leur vie, peuvent se soustraire à leur action, grâce à la chimiotaxie négative exercée par les agents. Or, s'il y a une production de leucocidine par le microbe infectant, même en petite quantité, il faut s'attendre à ne pas trouver de leucocytes au lieu de l'invasion et de multiplication microbienne, ou à n'en trouver que très peu là où la concentration de la leucocidine est trop faible pour enrayer l'afflux leucocytaire. Mais si d'un côté, dans l'organisme infecté, les leucocytes ne sont pas forcés de subir l'action délétère de la leucocidine à laquelle ils sont abandonnés *in vitro* sans pouvoir la fuir, d'un autre côté, le poison même ne reste pas libre comme dans notre tube, mais peut être fixé par le tissu environnant ou résorbé par voie lymphatique ou sanguine — c'est là ce qu'on observe à la périphérie du foyer de multiplication des microbes. Malgré cette multiplicité des facteurs on remarque, en général, dans les infections avec nos microbes, l'absence des

leucocytes au niveau des lésions pathologiques, si du reste l'infection est assez forte, le microbe assez virulent (la virulence étant liée à la production de leucocidine, comme nous allons le voir). (Rogowitsch, Hibler, Kamen.)

En dehors de ces preuves indirectes de la production de leucocidine dans l'organisme infecté (dégénérescence ou absence des leucocytes), on peut aussi en fournir une directe.

Si l'on recueille l'exsudat, le plus souvent sanguinolent, d'un cobaye ayant succombé à une infection sous-cutanée ou intrapéritonéale de nos microbes, on y peut découvrir la présence de leucocidine en le mélangeant *in vitro* avec les leucocytes lavés, comme nous l'avons vu plus haut avec les cultures.

Il reste encore un point de grande importance à élucider : c'est le rapport entre la production de leucocidine et la virulence de nos microbes.

Dans mes recherches j'ai étudié sept échantillons de diverses provenances : le vibrion septique B et G de la collection de l'Institut Pasteur (qui m'ont été obligeamment fournis par M. Binot, que je tiens à remercier ici chaleureusement), R (que je dois à l'amabilité de M. le docteur Rosenthal), K (de Kral à Prague) le bac. du charbon symptomatique, B et V de la collection de l'Institut, Z de la collection de l'Institut d'hygiène et de bactériologie de Cracovie.

Parmi ces sept échantillons, trois ont d'emblée produit de la leucocidine dans leurs cultures aussi bien que dans l'animal, les quatre autres en étaient dépourvus. Comme ces quatre échantillons étaient de vieilles cultures de laboratoire, très peu virulentes, j'ai résolu d'exalter leur virulence par des passages réitérés sur le cobaye, en commençant par l'injection de larges doses de cultures.

En effet, j'y ai réussi avec trois échantillons, le quatrième (le vibrion septique de Kral) a résisté à tout essai d'exaltation de virulence. Or, en même temps les trois échantillons ont acquis (ou récupéré?) la faculté de produire la leucocidine d'abord *in vitro* et ensuite aussi dans les cultures, tandis que l'échantillon avirulent n'y est pas parvenu. Un fait analogue a été constaté chez le staphylocoque par Neisser et Wechsberg; ces auteurs ont réussi à restituer, par quelques passages sur le lapin, son pouvoir leucocidique à un échantillon, qui, à la suite

d'un long séjour dans les milieux artificiels, avait presque complètement cessé de produire la leucocidine.

D'après ces expériences on peut déjà établir un rapport étroit entre la virulence et la production de leucocidine chez nos aérobies et attribuer un rôle important à cette production dans la pathogénie de l'infection. On comprendra facilement qu'un microbe, qui s'est introduit dans un organisme, ne parviendra à l'infecter qu'à condition de combattre avec succès les forces de défense de cet organisme tendant à le détruire ou à l'éliminer. Or, comme les leucocytes, en détruisant les microbes par la phagocytose et en neutralisant leurs poisons, sont un des principaux moyens de défense, il va sans dire qu'un microbe sécrétant un poison qui tue ces leucocytes et entrave leur arrivée par chimiotaxie négative, parviendra plus facilement à s'établir dans un organisme à infecter, qu'un autre de la même espèce, qui est dépourvu de telles armes.

En effet, il y a une série de recherches très ingénieuses qui démontrent d'une façon probante l'importance de la chimiotaxie négative dans les infections anaérobiques. Ainsi, Vaillard et Vincent ont trouvé que les spores tétaniques bien lavées ou chauffées à 63° et, partant, privées de leur toxine ne provoquent pas de tétanos chez les animaux sensibles, tandis que si on leur ajoute leur toxine ou un autre agent provoquant de la chimiotaxie négative des leucocytes, on voit la maladie se développer.

Ils expliquent ce fait par l'action chimiotaxique négative de la toxine, qui est détruite à 63° C.

Les recherches de Besson ont confirmé ces résultats quant au vibron septique; seulement ici il faut chauffer la toxine à 85° pendant 2-3 heures pour changer sa chimiotaxie négative en positive. Très intéressante est à notre point de vue la constatation de Besson, que l'infection par le vibron septique peut être facilitée si l'on associe à une dose du vibron, inefficace par elle-même, du staphylocoque doré, mais à condition qu'il vienne d'être isolé de l'organisme infecté. Or, nous savons qu'un tel staphylocoque produit de la leucocidine et c'est probablement par intervention de la chimiotaxie négative provoquée par celle-ci que l'infection devient possible. Des constatations analogues ont été faites par Leclainche et Vallée à propos du

bacille du charbon symptomatique : les spores privées de leur toxine sont bien supportées en grandes quantités, tandis qu'en leur ajoutant de la toxine ou de l'acide tartrique on arrive à faire succomber les animaux. Cette toxine exerce aussi une chimiotaxie négative, qui, par un chauffage de 2 heures à 70°-75° C., est changée en positive. Il est cependant important de remarquer une certaine divergence entre mes résultats relatés plus haut et ceux que je viens de résumer ; tandis que dans mes expériences l'action leucocidique des cultures disparaît après un chauffage d'une demi-heure à 50-55° C., il faut les chauffer à 70-85° pour faire disparaître l'action chimiotactique négative.

La différence n'est peut-être, du reste, qu'apparente, car il pourrait s'agir ici de deux fonctions d'une même substance, qui offrent une sensibilité différente vis-à-vis de la chaleur.

Le rapport qui existe entre la production de leucocidine et la virulence des anaérobies, ainsi que le rôle qu'elle joue dans la pathogénie de l'infection anaérobique, la rapprochent beaucoup des « agressines », dont l'existence et l'importance pathologique ont été tant discutées dans ces temps derniers. On sait que par ce nom (créé par Kruse) Bail et ses élèves désignent des substances sécrétées par les microbes dans l'organisme infecté, dont la qualité essentielle serait de neutraliser les moyens de défense de cet organisme et surtout d'enrayer la phagocytose. Injectée en même temps qu'une dose inférieure à la dose minima mortelle du microbe qui l'a produit, l'agressine rend l'inoculation mortelle, l'infection légère ou moyenne devient grave en sa présence. Or, d'après cette définition, la leucocidine décrite plus haut entrerait dans le cadre des « agressines » et comme telle devrait être rapprochée de celle du staphylocoque du bacille du foin, dont l'action est probablement aussi celle d'une leucocidine. Seulement il y a lieu de faire quelques remarques sur ce point. Notre « agressine » est produite non seulement *in vivo*, comme le prétend Bail, qui fait de cette propriété un attribut essentiel de son corps nouveau, mais aussi dans les cultures et, ce qui est encore plus intéressant, dans les cultures au maximum de leur vitalité. (Elle ne serait pas un produit de macération et de désagrégation, comme les « agressines artificielles » de Wassermann et Bruk). Des constatations analogues ont été faites par Lévy et Fornet, qui

ont pu démontrer une action « agressive » de cultures typhiques et paratyphiques filtrées après 24 heures. Notre « agressive » est de plus toxique (ou au moins accompagnée par une toxine), comme il résulte des recherches de Roux, Duenschmann, Leclainche et Vallée, Schattenfroh et Grassberger et des nôtres; cette toxicité des « agressives », contestée d'abord par Bail et ses collaborateurs, a du reste été constatée à propos du bacille dysentérique (Bail et Weil), du staphylocoque (Bail et Kikuchi) et tout récemment du bacille typhique (Bail). Je ne pourrais dire, pour le moment, si l'on doit considérer l'action leucocidique comme une fonction de la toxine ou si elle est due à un corps différent.

Comme la symbiose avec des divers germes aérobies joue un grand rôle dans la pathogénie des infections expérimentales et probablement aussi spontanées, il serait très intéressant d'établir le mécanisme de cette action favorisante. Vaillard et Vincent pensent, que le *micr. prodigiosus*, en provoquant une phagocytose intense, détourne les phagocytes des spores tétaniques et de telle façon rend possible l'infection. Cette explication se trouve corroborée par l'expérience de Besredka, d'après laquelle les leucocytes bourrés de grains de carmin refusent de phagocyter les cristaux de trisulfure d'arsenic, dont ils s'emparent énergiquement dans des conditions normales. Mais à côté de cette action il est possible que les microbes favorisants affaiblissent ou annihilent la phagocytose par une action leucocidique. Le staphylocoque doré que nous trouvons parmi ces microbes est producteur d'une leucocidine (Besson remarque que seulement les échantillons qui viennent d'être isolés de l'organisme infecté jouissent d'une action favorisante, ce qui concorde bien avec la constatation de Neisser et Wechsberg, que ce sont justement ceux qui produisent la leucocidine); Helly trouve une action leucocidique aux cultures filtrées du bac. de Friedlaender, Weil et Nakayama aux « agressives » du bac. *subtilis*. D'autres microbes tuent probablement les leucocytes, non par des leucocidines du type des ectotoxines, mais par des endotoxines, c'est-à-dire par des leucocidines qui sont mises en liberté par la digestion phagocytaire du microbe. Ainsi j'ai pu remarquer que si l'on ajoute *in vitro* une émulsion du *micr. prodigiosus* à des leucocytes et ensuite une émulsion des sta-

phylocoques (sensibilisés), il y a une phagocytose intense des coccobacilles mais, les coques ajoutés ultérieurement restent libres, tandis que les leucocytes normaux s'en bourrent complètement. Le même phénomène se passe si, au lieu du *micr. prodigiosus*, on prend le pneumobacille de Friedlaender. C'est à la même action endotoxique des microbes phagocytés, qu'il faut attribuer la dégénération des leucocytes après ingestion du bac. typhique et du vibrion cholérique, décrite tout récemment par Neufeld et Hüne, l'action leucocidique du bac. pyocyanique trouvée par Metchnikoff et Gheorghewsky, celle du colibacille décrite par Beattie, celle du bac. morveux tué signalée dans ce temps dernier par Cantacuzène et Riegler et peut-être aussi celle qu'on a observée après la phagocytose du bac. de Koch (Borrel, Maurel, Calmette). Il me semble très probable que cette action leucocidique des endotoxines joue un rôle important dans la pathogénie des diverses infections.

Après avoir constaté la production de leucocidines chez nos anaérobies, il était indiqué de rechercher si on peut neutraliser son action soit par un sérum normal, soit par un sérum spécifique obtenu par immunisation avec notre toxine. Contrairement à ce qui a été constaté pour la leucocidine staphylococcique, je n'ai pas trouvé d'action antileucocidique au sérum normal de lapin ou de cheval, même en proportion de 20 volumes de sérum pour 1 volume de toxine, après un contact de 3 heures à la température de la chambre. Par contre, le sérum de cobaye normal offre parfois (mais pas constamment) un pouvoir neutralisant assez remarquable. L'immunisation des lapins contre notre poison est assez difficile, les cultures étant très toxiques et mal supportées (même les cultures âgées de 50 jours). C'est à cause de cette circonstance que je n'ai réussi à faire supporter des doses moyennes de toxine, qu'à deux lapins, dont un seulement a fourni un sérum actif vis-à-vis de notre leucocidine (et en même temps antitoxique). Ce lapin a reçu trois injections intraveineuses de culture du bac. de charbon symptomatique; son sérum pris avant les injections et conservé dans une pipette scellée s'est montré inactif dans les conditions indiquées plus haut; après l'immunisation il neutralisait la leucocidine en proportion de 2 volumes de sérum pour 1 volume de toxine, mais non à parties égales. Ce qui est remarquable, c'est que ce sérum

obtenu avec la toxine du bac. du charbon symptomatique neutralisait aussi, et dans les mêmes proportions, la leucocidine du vibrion septique. Il serait naturellement prématuré de conclure de cette expérience unique que les leucocidines de nos deux espèces anaérobies sont identiques (des faits analogues ont été constatés par Zupnik et par Kraus et Pribram à propos des vibrions choléroïdes); toutefois ces expériences méritent d'être répétées plus exactement qu'il ne m'a été possible de le faire. L'expérience suivante a été faite pour voir si le chauffage d'un mélange de leucocidine et d'antileucocidine peut dissocier leur combinaison.

EXPÉRIENCE. — Un mélange à parties égales de leucocidine du charbon sympt. et de sérum de lapin antitoxique reste 1 heure $1/2$ à la température de la chambre, ensuite les mélanges suivants sont préparés, auxquels on ajoute, après 30 minutes de contact, une partie égale d'une émulsion de globules blancs humains; le résultat quant à l'action leucocidique est noté après un séjour d'une heure à l'étuve.

1. 5 vol. [Toxine + Sérum aa] + 1 vol. de sol. physiол. — dégénération intense.

2. 5 vol. [Tox. + Sér. aa chauffé pendant 15' à 60° C.] + 1 vol. de sol. physiол. — pas de dégénération.

3. 5 vol. [Tox. + Sér. aa chauffé pendant 15' à 60° C.] + 1 vol. de toxine. — dégénération intense.

4. 5 vol. [Tox. + Sér. aa chauffé pendant 15' à 60° C.] + 1 vol. de tox. dil. $1/2$ — dégénération intense.

5. 5 vol. [Tox. + Sér. aa chauffé pendant 15' à 60° C.] + 1 vol. de tox. dil. $1/4$ — pas de dégénération.

6. 5 vol. de sol. physiол. + 1 vol. de toxine — dégénération intense.

7. 5. vol. de sol. physiол. + 1 vol. de tox. dil. $1/2$ — dégénération intense.

8. 5 vol. de sol. physiол. + 1 vol. de tox. dil. $1/4$ — dégénération intense.

Cette expérience démontre qu'un mélange de leucocidine et d'antileucocidine contenant un excès de la première (voir tube 1) devient antitoxique par un chauffage qui détruit la toxine; toutefois l'effet est très modéré et ne restitue qu'une partie bien faible d'antitoxine contenue dans le mélange.

Après avoir constaté la production de leucocidine par nos deux anaérobies, il était indiqué de rechercher s'ils produisent des hémolysines. En effet, deux autres anaérobies, le bac. tétanique et le *Bac. perfringens* (*Bac. d'Achalme*. *Bac. phlegmones emphysematosæ* Fraenkel-Welch), produisent aussi des hémolysines (Ehrlich, Kamen). De plus, la coloration rouge des épanche-

ments est un des symptômes caractéristiques de la gangrène gazeuse et du charbon symptomatique. Mes expériences ont complètement confirmé cette prévision en démontrant une production très nette des hémolysines, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. Pour mettre en évidence l'hémolysine, je me suis servi de deux méthodes; la première a été décrite à propos de la recherche des leucocidines, les tubes de Wright offrant l'avantage qu'on peut à la fois constater l'action hémolytique et leucocidique; on peut aussi se servir d'une émulsion plus diluée des globules rouges lavés, par exemple à 20 0/0 ou 10 0/0. Pour cette recherche, il vaut mieux se servir de tubes capillaires plus larges qu'à l'ordinaire et les maintenir debout jusqu'à la fin de l'expérience, c'est-à-dire pendant 20-24 heures. S'il s'agit d'avoir des résultats plus exacts, on se servira de préférence de la méthode ordinaire qui consiste à mélanger une émulsion à 5 0/0 des globules lavés avec une quantité égale de culture entière ou diluée, et de noter les résultats après 2 heures d'étuve et après 24 heures de séjour à la température de la chambre.

Quant aux conditions de la production d'hémolysine, on peut répéter tout ce qui a été dit au sujet de la leucocidine; tout ce qui a une influence sur l'apparition et la richesse de la leucocidine agira de la même façon sur celle de l'hémolysine. On peut la constater dans les cultures obtenues suivant les divers procédés mentionnés plus haut, parfois déjà après 18 heures de développement.

Comme cela été démontré à propos des différentes autres hémolysines, les globules rouges de différentes espèces offrent une sensibilité variable vis-à-vis de notre hémolysine; voici la liste par ordre décroissant de sensibilité: globules du cobaye, de la souris, du rat, de l'homme, du lapin, du cheval, du bœuf, de la poule, du mouton. Les différences de sensibilité peuvent être très remarquables, si l'on prend les extrêmes de l'échelle; ainsi par exemple pour provoquer l'hémolyse complète d'un centimètre cube de sang de mouton à 5 0/0, il fallait lui ajouter 1 c. c. de toxine, tandis que pour hémolyser complètement la même quantité de sang de cobaye, il a suffi de 0,005 c. c. de la même toxine, ce qui fait une sensibilité 200 fois plus grande. Cette différence vraiment énorme peut

être expliquée de deux façons différentes; ou bien il y a une hémotoxine homogène et les différentes espèces des globules l'absorbent d'une façon différente selon leur avidité pour elle, ou bien notre hémotoxine est composée des différentes toxines partielles, qui agissent sur les différentes espèces des globules, et s'y trouvent dans des proportions très différentes. L'expérience suivante permet de répondre à cette question : on ajoute à une quantité d'hémolysine des globules lavés de mouton, après un contact d'une heure on centrifuge, on décante le liquide surnageant, on lui ajoute une nouvelle portion de globules, on centrifuge et décante le liquide pour la seconde fois et l'on répète la même manipulation encore une fois. Le liquide décanté après la troisième centrifugation est ensuite évalué, quant à son pouvoir hémolytique vis-à-vis des globules de mouton et de cobaye, et ces valeurs sont comparées à celles de la toxine originaire non absorbée. Si l'hémotoxine est unique, l'absorption aura produit une diminution proportionnelle du pouvoir hémolytique pour les deux espèces de sang; si au contraire il y a dans l'hémotoxine une série des toxines partielles, l'absorption épuisera le pouvoir hémolytique pour le sang de mouton, le laissant plus ou moins intact pour le sang de cobaye. C'est cette dernière éventualité qui se trouve vérifiée par l'expérience suivante.

EXPÉRIENCE. — A. liquide décanté après la troisième absorption de l'hémolysine du charbon symptomatique par les globules lavés de mouton.

B. Hémolysine non absorbée.

Tous les tubes reçoivent de quantités variées de A ou de B 0,1 c. c. d'émulsion de globules lavés à 50 0/0 et on ajoute la quantité d'eau physiologique nécessaire pour faire un volume de 2 c. c. Résultat hémolytique après 2 heures à 37° C. et après 24 heures à la température de la chambre.

Hémolyse : c. = complète, p. c. = presque complète, f. = forte, fai. = faible, t. = trace, n. = nulle.

QUANTITÉ de		GLOBULES LAVÉS DE							
		Mouton.		Rat.		Homme.		Cobaye.	
A	1.9	n.	n.	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	1.0	n.	n.	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	0.5	n.	n.	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	0.2	—	—	p. c.	c.	fai.	c.	c.	c.
	0.1	—	—	f.	f.	t.	p. c.	c.	c.
	0.05	—	—	fai.	f.	n.	f.	p. c.	c.
	0.02	—	—	—	—	—	—	fai.	p. c.
	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—
B	1.9	t.	c.	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	1.0	t.	f.	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	0.5	n.	f.	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	0.2	—	—	c.	c.	c.	c.	c.	c.
	0.1	—	—	p. c.	c.	p. c.	c.	c.	c.
	0.05	—	—	fai.	f.	f.	c.	c.	c.
	0.02	—	—	n.	fai.	n.	f.	p. c.	c.
	0.01	—	—	—	—	—	—	f.	p. c.
Contrôle.		0	n.	n.	n.	n.	t.	n.	n.

Nous trouvons donc qu'après contact avec le sang de mouton le pouvoir hémolytique vis-à-vis de ce sang est complètement épuisé, tandis qu'il n'est presque pas diminué vis-à-vis des trois autres espèces des globules. Des constatations analogues ont été faites par Todd à propos de la mégathériolysine et par Volk et Lipschitz à propos de la staphylolysine.

La sensibilité de notre hémotoxine vis-à-vis des facteurs physiques et chimiques la rapproche des autres hémolysines thermolabiles, telles que la staphylolysine, et est essentiellement identique à celle de la leucocidine de nos anaérobies, ou même encore plus grande. L'hémolysine est détruite par le chauffage à 50° 55° C. par le contact de l'air et par l'action prolongée

de la température de la chambre; même à la glacière elle s'affaiblit peu à peu, tandis que la leucocidine est très bien conservée à cette température (c'est le contraire qui a été observé par Neisser et Wechsberg à propos de l'hémolysine et de la leucocidine staphylococcique). Une hémolysine inactive par un séjour de 3 jours à l'étuve acquiert la propriété d'entraver l'action hémolytique de la toxine active; le résultat est le même si l'on ajoute aux globules, d'abord la toxine inactivée et ensuite la toxine active (a), ou si l'on mélange en même temps la toxine active et inactive aux globules (b), comme le démontre l'expérience suivante :

A

Tox. inact.	Sol. physiol.	Sang 50 0/0.	Après 2 h. 37°.		Résultat.
1.9	0	0.1	n.	On ajoute à tous les tubes 0.1 de tox. act. dil. au 1/4.	n. t.
1.0	0.9	0.1	n.		t. fai.
0.5	1.4	0.1	n.		f. p. c.
0.2	1.7	0.1	n.		p. c. -e.
0.1	1.8	0.1	n.		c. c.
0	1.9	0.1	n.		c. c.

B

Tox. inact.	Tox. act. (1/4).	Sol. physiol.	Sang 50 0/0.		Résultat.
1.9	0.1	0	0.1		n. t.
1.0	0.1	0.9	0.1		t. fai.
0.5	0.1	1.4	0.1		f. f.
0.2	0.1	1.7	0.1		p. c. p. c.
0.1	0.1	1.8	0.1		c. c.
0	0.1	1.9	0.1		c. c.
0	0	2.0	0.1		n. n.

Si la toxine est inactivée par la chaleur, l'action inhibitrice est moins nette :

EXPÉRIENCE : Toxine du bac. de charbon symptomatique active. La même chauffée à 56° pendant 30'; émulsion de globules lavés de cobaye à 50 0/0.

Tox. inact.	Sol. physiol.	Sang 50 0/0	Après 2 h. 37°.		Résultat.
1.9	0	0.1	n.	On ajoute à tous les tubes 0.1 de tox. act. dil. au 1/2.	f. i.
1.0	0.9	0.1	n.		p. c. c.
0.5	1.4	0.1	n.		c. c.
0.2	1.7	0.1	n.		c. c.
0.1	1.8	0.1	n.		c. c.
0	1.9	0.1	n.		c. c.

Ces faits démontrent que l'inactivation transforme l'hémolysine en une modification privée de l'action spécifique sur les globules, mais gardant encore l'affinité pour eux; si une

quantité suffisante de cette toxine inactivée se combine aux globules, la toxine active n'a plus d'action sur eux et l'hémolyse est entravée totalement ou partiellement. Comme les globules peuvent fixer un grand excès d'hémolysine (Volk), la dose empêchante de toxine modifiée sera forcément assez élevée (80 fois plus grande que celle de toxine active dans l'expérience relatée), ce qui se trouve d'accord avec les faits constatés à propos d'agglutinoïdes et précipitoïdes (Bail, Eisenberg et Volk, Kraus et V. Pirquet, Muller, Eisenberg). Le fait que le résultat reste le même, à quelque moment que l'on ajoute la toxine active, prouve que la toxine inactive est douée d'une affinité plus grande pour les globules que l'active. Des modifications analogues ont été constatées par Centanni et par Ciuffo à propos de l'hémolysine diphtérique (stomosines) et par une autre méthode, par Volk et Lipschütz, à propos de la vibriolysine (lysinoïde).

L'union entre notre hémolysine et les globules rouges semble s'opérer d'après la loi des proportions multiples; le phénomène de Bordet, décrit par ce savant à propos des couleurs et des hémolysines animales, se retrouve ici très nettement : si à une quantité déterminée d'hémolysine on ajoute, en une fois, une quantité de globules, elle sera complètement dissoute, mais si on l'ajoute en doses fractionnées, l'hémolyse restera incomplète.

EXPÉRIENCE. — Deux séries de tubes reçoivent chacun 0,2 c. c. de toxine; on ajoute ensuite aux tubes de la première série 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,2 1,4, c. c. d'émulsion des globules lavés de cobaye à 50 0/0 et de la solution physiologique pour établir partout un volume de 2 c. c.; aux tubes de la seconde série on ajoute les mêmes quantités de sang, mais en dose de 0,1 c. c. toutes les 10'; après on remplit à 2 c. c. Résultat : hémolyse complète dans tous les tubes de la première série, complète dans les tubes avec 0,5, 0,6, 0,7 c. c. de sang de la seconde, incomplète dans les autres avec 0,8, 1,2 c. c. de sang.

L'hémolysine, comme nous l'avons déjà dit, n'est pas produite seulement *in vitro*, mais, et c'est là un point important, aussi *in vivo*, aussi bien dans les infections expérimentales que spontanées. L'exsudat péritonéal ou sous-cutané des animaux infectés avec nos anaérobies (pourvu qu'ils aient un degré suffisant de virulence) contient de l'hémolysine qu'on peut

mettre en évidence *in vitro*. D'un autre côté, il est bien connu, que la teinte hémorragique provenant de l'hémoglobine dissoute est un des signes caractéristiques anatomo-pathologiques de la gangrène gazeuse et du charbon symptomatique. On ne connaissait pas jusqu'ici d'infection naturelle dans laquelle on pourrait constater l'action des hémolysines, qu'on démontre si facilement *in vitro* (l'hémolyse streptococcique s'observant seulement dans l'infection expérimentale du lapin).

Je ne peux pas être d'accord sur ce point avec Froin, qui, dans une note récemment publiée (*Compt. Rend. Soc. de Biol.* 1907, n° 8), déclare que « les anaérobies n'entraînent pas d'extravasation globulaire notable et consécutivement pas de diapédèse leucocytaire ». La première thèse est en contradiction avec l'expérience anatomo-pathologique, l'autre est juste, mais s'explique bien plus facilement par l'action chimiotaxique négative de la leucocidine de nos anaérobies, comme nous avons cherché à le démontrer plus haut.

La production de l'hémolysine, de même que celle de la leucocidine, est liée à un degré de virulence du microbe; parmi mes 7 échantillons, 3 seulement ont d'emblée produit l'hémotoxine, 3 autres ont acquis cette propriété en même temps que la virulence par des passages sur le cobaye, le dernier est resté avirulent et privé de la production d'hémolysine et de leucocidine. Un tel rapport entre la virulence et la production d'hémolysine a été constaté chez le bacille pesteux par Raybaud, chez le bacille pyocyanique par Wassermann, chez le streptocoque par Marimorek, Schottmüller, Kerner, Meyer et chez le bacille diphtérique par Schwoner.

Quant à la question de savoir si hémolysine et leucocidine ne sont qu'une substance unique, ou bien si elles sont deux corps à part, je ne peux pas pour le moment me prononcer d'une façon décisive. Toutefois, faut-il remarquer que, quoique paraissant liées ensemble, elles ne le sont pas d'une façon absolue. Ainsi, pendant les passages sur le cobaye des échantillons peu virulents, j'ai vu l'hémolysine apparaître plus tôt que la leucocidine. Au contraire on arrive, dans les cultures vieilles, à démontrer l'existence de la leucocidine, tandis que l'hémolysine est complètement inactivée, ce qui prouverait une certaine indépendance de ces deux fonctions. A côté de l'hémo-

lyse, on observe parfois une agglutination très nette des hématies; si l'hémolyse est un peu lente, on peut voir les globules tomber en grands amas au fond du tube dans un temps très court, parfois même dans les tubes où la quantité d'hémolysine est trop petite pour provoquer même une trace d'hémolyse. Toutefois, sans entrer dans la question, non encore résolue, de l'identité des hémolysines et des hémagglutinines bactériennes, il faut retenir qu'une hémotoxine inactivée complètement par un séjour de 3 jours à l'étuve, ou par un chauffage de 30° à 56° C peut encore très nettement agglutiner les hématies.

Comme diverses autres hémolysines, celle des anaérobies peut aussi être neutralisée par une antihémolysine contenue ou dans des sérums normaux ou dans des sérums spécifiques. Les sérums normaux de cobaye, de lapin et surtout celui de cheval exercent une action antihémolytique indéniable, mais faible. L'expérience suivante démontre que le résultat de neutralisation reste le même si on laisse agir le sérum antitoxique (de cheval) 3, 2, 1 heure, 30, 15, 5 minutes sur la toxine, avant de lui ajouter les globules ou si l'on mélange en même temps tous les trois :

EXPÉRIENCE. — Toxine du bac. de charbon sympt., sérum normal de cheval. Résultats après un séjour de 2 heures à l'étuve et de 24 heures à la température de la chambre; globules humains lavés à 50 0/0.

Sérum de cheval.	Toxin.,	Sol. physiolog.	Globules.	LES GLOBULES SONT AJOUTÉS AU MÉLANGE APRÈS							
				3h	3h	1h	30'	15'	5'	0'	
2.8	0.1	0	0.1	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	
1.6	0.1	1.2	0.1	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	
0.8	0.1	2.0	0.1	n. t.	n. t.	n. t.	n. t.	n. t.	n. t.	n. t.	
0	0.1	2.8	0.1	c. c.	— —	— —	— —	— —	— —	— —	
0	0	2.9	0.1	n. n.	— —	— —	— —	— —	— —	— —	

Le même mélange de toxine et de sérum de cheval, qui est neutre pour les globules humains, peut être nettement toxique pour des globules plus sensibles, comme ceux de cobaye; des faits analogues ont été constatés pour la toxine diphtérique et son antitoxine (Dreyer et Madsen, Morgenroth).

Le sérum spécifique obtenu par immunisation a une action neutralisante beaucoup plus nette. C'est le même sérum dont nous avons parlé plus haut à propos de l'antileucocidine. Les cultures qui ont servi pour l'immunisation de ce lapin étaient presque inactives au point de vue de l'hémolyse, ce qui prouve que la modification inactive de l'hémolysine, dont nous avons parlé plus haut, a gardé son affinité pour les éléments dont dérive l'antihémolysine. Le même fait a été démontré, quant à la vibriolysine, par Volk et Lipschütz, tandis que ni eux, ni Neisser et Wechsberg n'ont réussi à obtenir une antistaphylolysine par des injections d'une staphylolysine inactivée.

Le sérum de ce lapin, comme celui de 5 autres, que nous avons évalués, était presque inactif avant le début d'injections, après 3 injections il neutralisait la toxine à raison de 2 volumes pour 1 volume de toxine. Ici, comme pour le sérum normal, le temps de contact entre l'hémolysine et l'antihémolysine ne joue aucun rôle, quant au résultat de neutralisation; celui-ci reste le même, si au mélange des deux substances on ajoute les globules après 80', 45', 30', 5' ou même si l'on mélange les trois à la fois. Par contre je n'ai pas réussi, avec mon sérum, à guérir les globules déjà empoisonnés, c'est-à-dire d'empêcher l'hémolyse si j'ajoutais l'hémolysine aux globules et après 7,15 30 minutes, le sérum antitoxique.

Si l'on chauffe un mélange d'hémolysine et d'antihémolysine contenant un excès de la première substance, à une température qui détruit l'hémolysine, le mélange devient antitoxique, c'est-à-dire qu'il acquiert la propriété de neutraliser de nouvelles doses d'hémolysine ajoutées ultérieurement. Voici les détails de cette expérience :

EXPÉRIENCE. — Un mélange de toxine du vibron septique et de sérum antitoxique (parties égales) est distribué par 2 c. c. dans 2 séries de 4 tubes. La série A reste telle, la série B est chauffée à 60° pendant 30'. Ensuite on ajoute partout des quantités différentes de toxine active; après une heure de contact à la température de la chambre, on ajoute encore une émulsion de globules humains lavés à 50 0/0. Les résultats sont notés après 2 heures d'étuve et après 24 heures à la température de la chambre :

Toxine.	Sérum.	Sol. phys.	Toxine.	Sang.	A		B	
1.0	1.0	0.1	0.8	0.1	c.	c.	fai. f.	(1)
1.0	1.0	0.5	0.4	0.1	c.	c.	n. n.	(2)
1.0	1.0	0.7	0.2	0.1	f.	p. c.	n. n.	(3)
1.0	1.0	0.9	0.	0.1	f.	p. c.	n. n.	(4)
0.	0.	2.7	0.2	0.1	c.	c.	—	—
0.	0.	2.9	0	0.1	n.	n.	—	—

La colonne A montre que le mélange non chauffé jouit aussi des propriétés antitoxiques bien que toxique par lui-même (comparaison des tubes 4 et 3), ce qui concorde avec les constatations d'Ehrlich et de Danysz; quoiqu'on ajoute ici au mélange une dose hémolytique complète, le résultat ne change pas. La comparaison des tubes 2, dans les 2 séries, montre pourtant que l'action antitoxique du mélange chauffé est plus grande que celle du mélange non chauffé : ici le résultat change déjà dans A, il reste le même dans B. Le temps de contact entre l'hémolysine et l'antihémolysine avant le chauffage n'a pas d'influence sur le résultat.

Quelques autres anaérobies que j'ai pu me procurer, le *bac. botulinus* van Ermenghem, le *putrificus* de Bienstock, ainsi que deux saprophytes de l'intestin du cobaye et du lapin se sont montrés incapables de produire de la leucocidine et de l'hémolysine.

En terminant ce travail, je remplis un agréable devoir en remerciant chaleureusement M. Metchnikoff pour l'hospitalité avec laquelle il m'a ouvert son laboratoire et pour sa bienveillance continue.

Avril 1907.

BIBLIOGRAPHIE

- ARLOING, CORNEVIN, THOMAS, *Le Charbon bactérien*, Paris, 1883.
BAIL, *Arch. f. Hyg.* XXX, p. 348-371.
BEATTIE, *Journ. of Path. u. Bact.*, VIII, p. 129-176.
BESREDKA, ces *Ann.*, XIII.
BESSON, ces *Ann.*, IX, p. 179-198.
BORISSOW, *Ziegl. Beitr.*, XVI.
BORREL, ces *Ann.*, VII.
CALMETTE, *Tuberculosis*, V, p. 497.
CANTACUZÈNE et RIEGLER, ces *Ann.*, XXI, p. 194-210.
CENTANNI, *Rif. med.*, 1902.
CUFFIO, *Fol. haematol.*, 1906, p. 29.
DEBRAND, ces *Ann.*, XV, p. 738.
DENYS et VAN DE VELDE, *Cellule XI*.
GHEORGHIOWSKY, ces *Ann.*, XIII, p. 298-318.
HELLY, *Ziegl. Beitr.*, XXXVII, p. 171-278.
— *Gbt. f. Bakt. Or.*, XXXIX, p. 94-98.
V. HIBLER, *ibid.*, XXV.
KAMEN, *ibid.*, XXXV, p. 709-710.
KIENER et DUCLERT, *Arch. méd. exp.*, V, p. 705-756.
LECLAINCHE et VALLÉE, ces *Ann.*, XIV, p. 202.
LEVY et GAETHGENS, *Arb. a. d. Kais. Ges. Amt.*, XXV, p. 240-246.
LEVY et FORNET, *Deutsche med. Woch.*, 1906, p. 1039.
MARWEDEL, *Ziegl. Beitr.*, XXII.
MAUREL, *Recherches expérimentales sur les leucocytes du sang, Congr. internat. de la tuberc.*, Paris, 1905, t. I, p. 185-190.
METCHNIKOFF, *Virch. Arch.*, XCVI, p. 177-195.
NEISSER et WECHSBERG, *Zeitschr. f. Hyg.*, XXXVI, p. 299-349.
NEUFELD et HUNE, *Arb. a. d. Kais. Ges. Amt.*, XXV, p. 164-202.
ROGOWITSCH, *Ziegl. Beitr.*, IV, p. 291-312.
ROSENOW, *Journ. of Inf. Dis.*, III, p. 683-700.
RUFFER, ces *Ann.*, V, p. 673-694.
SCHATTENFROH et GRASSBERGER, *Ueber das Rauschbrandgift und ein anti-toxisches Serum.*, Leipzig-Wien, 1904.
TODD, *Transact. of the Path. Soc.*, London, 1902.
VAILLARD et VINCENT, ces *Ann.*, V, p. 1-39.
VAN DE VELDE, *Cellule X*.
VOLK et LIPSCHUTZ, *Wien. klin. Woch.*, 1903, n° 50.
WEIL et NAKAYAMA, *Berl. kl. Woch.*, 1906, p. 70-72.
WOLFF, *Berl. klin. Woch.*, 1902, n° 6.
WRIGHT, *Proc. Roy. Soc.*
-

Conservation du bacille pesteux dans le corps des punaises¹.

PAR V. JORDANSKY ET N. Kladnitsky

(Travail du laboratoire de bactériologie à Astrakan.)

L'étude scientifique de la transmission de la peste n'est devenue possible qu'après la découverte du microbe spécifique par Yersin. L'épidémie de peste qui, depuis 1896, ravage l'Inde, ainsi que les poussées qui ont eu lieu dans diverses contrées, ont été l'occasion de nombreuses recherches sur cette maladie. Grâce à elles, on sait que la peste ne se transmet pas par l'air du moins dans le cas de peste bubonique, que la maladie ne passe pas directement d'un pestiféré à un homme sain. L'extrême rareté des cas de peste sur les médecins et sur le personnel des hôpitaux dans l'Inde prouve bien qu'il en est ainsi.

Il est bien établi aujourd'hui que les épidémies de peste humaine sont précédées et accompagnées d'une grande mortalité sur les rats; la maladie sévit d'abord sur ces rongeurs qui la propagent. Mais comment la peste est-elle transportée du rat à l'homme? Les expériences si probantes faites dans ces dernières années ont prouvé que la transmission s'accomplit par l'intermédiaire d'insectes piqueurs.

Dès 1876, le défunt professeur Minet soutenait que les insectes jouent un rôle dans la diffusion des maladies contagieuses. Malgré les moqueries qui accueillirent cette assertion, il émit de nouveau, en 1892, l'opinion que le typhus exanthématique est propagé par des insectes. Tietine pense que ce mode de transmission est évident pour la fièvre récurrente.

En 1894, Yersin remarqua un grand nombre de mouches mortes dans le laboratoire où il pratiquait les autopsies des animaux pesteux, et il trouva des bacilles virulents dans les cadavres de ces insectes. Plus tard, M. Hunter constate, à l'hôpital de Hong-Kong, que sur 20 mouches de la salle d'autopsie, 15 renfermaient des bacilles pesteux. M. Nuttal dans

1. Communication faite à la Société des médecins d'Astrakan, 20 janvier 1907.

des expériences fort bien conduites a montré que les mouches infectées par le bacille pesteux mouraient plus vite et en plus grand nombre que les mouches de contrôle. Il a pu extraire du corps de ces insectes des bacilles pesteux virulents 24 à 48 heures après l'infection.

Il est possible que des mouches infectées aillent se poser sur la peau de l'homme et aussi souiller des aliments en laissant sur eux les bacilles pesteux contenus dans leurs déjections. Il pourrait en être ainsi des cafards, d'après M. Cao, car ils conservent, dans leur corps et dans leurs excréments, le bacille pesteux vivant pendant un certain temps. M. Hankin pense aussi que les fourmis qui, dans l'Inde, s'attaquent aux cadavres des rats morts de peste peuvent dans certains cas servir de véhicule au bacille pesteux. Cependant, la façon dont la peste s'étend ne permet pas d'attacher d'importance au rôle des mouches, des cafards (*periplaneta orientalis* et *phylodromiagermanica*) et des fourmis dans la diffusion de la maladie.

M. Simond a émis l'opinion que l'insecte transporteur du virus pesteux est la puce. Il a institué des expériences très ingénieuses pour démontrer que les puces sont les agents de transmission de la peste, du rat au rat et du rat à l'homme. MM. Galli-Valerio, Kolle, et d'autres auteurs ont combattu l'avis de Simond, il a cependant fini par triompher et les expériences publiées dans les divers rapports de la commission anglaise ne permettent pas de douter que les puces ne soient les propagateurs du virus pesteux. Toutes les espèces de puces trouvées sur le rat ne sont pas également aptes à remplir ce rôle; « pullex chéopis » est particulièrement redoutable parce qu'elle conserve longtemps le virus pesteux à l'état vivant dans son tube digestif et qu'elle pique volontiers l'homme.

La puce est-elle le seul insecte piqueur capable de transmettre la peste? Les poux et les punaises ne pourraient-ils dans certains cas remplir l'office de convoyeurs de virus? M. Nuttal s'est déjà préoccupé de ces questions et il a montré que les bacilles pesteux contenus dans le canal intestinal des punaises sont encore virulents après 72 heures, mais qu'au bout de cinq jours ils n'infectent plus les animaux auxquels on les inocule.

Selon M. Wierzbisky les bacilles pesteux se trouvent dans le corps des puces et des punaises ayant piqué un animal pesteux

dans les 26 dernières heures de sa vie. Les bactéries pulluleraient chez les insectes qui ont sucé le sang et conserveraient leur virulence de 3 à 6 jours chez la puce. Chez les punaises peu affamées, les bacilles disparaîtraient le 3^e jour; tandis que chez celles qui ont jeûné de 4 mois à 4 mois $\frac{1}{2}$ avant la piqûre on les trouverait encore après 8 et 9 jours. Les puces pourraient transmettre la maladie par piqûre pendant les trois jours qui suivent leur infection et les punaises pendant cinq jours. La réaction au point piqué est faible ou même nulle.

Il se pourrait donc que, dans certains cas, la peste soit propagée par les punaises et nous avons décidé d'étudier expérimentalement la transmission de la peste aux souris par l'intermédiaire de ces insectes piqueurs.

Nous nous sommes servis de punaises de souris, puis de punaises de lit. Nous infectons une souris en lui inoculant sous la peau une culture de peste en bouillon¹; habituellement dès le troisième jour, le sang, pris à la queue, contient des bacilles pesteux en assez grand nombre pour qu'on les distingue facilement sur des préparations colorées ou non. Alors, la souris est transportée dans un bocal propre avec des punaises pas trop affamées. Au bout de 2 à 3 heures toutes sont gorgées de sang. Elles piquent d'abord l'animal à la queue, quand il est mourant, elles le piquent aussi à la tête et aux pattes.

Lorsque la souris pesteuse a encore quelque vigueur, elle se débarrasse des punaises et les détruirait toutes si on n'avait pas soin de disposer dans la cage bocal quelques planchettes où les insectes puissent se réfugier. Les punaises craignent l'humidité et périssent dans l'urine: aussi pour réussir sûrement dans nos expériences, nous mettions les punaises à piquer sur la souris immobile en les surveillant constamment: quand elles étaient gorgées de sang, nous les transportions, au moyen d'une petite pince, dans un bocal propre et ne contenant que quelques morceaux de bois pour servir d'abri. Le bocal découvert est conservé à la température de la chambre.

Après la mort de la souris ainsi piquée par les insectes, on s'assurait qu'elle avait bien succombé à la peste.

En perçant le dos d'une punaise avec l'extrémité effilée

1. Nous employons une culture de peste provenant de l'épidémie de l'Oural en 1907, elle était de virulence faible, nous l'avons renforcée de façon qu'elle tue la souris blanche en 3, 4 jours à la dose de 0 c. c. 1 à 0 c. c. 2 sous la peau.

d'une pipette de verre stérilisée, on réussit à retirer de quoi faire des préparations et desensemencements. Lorsque cela n'était pas possible, l'insecte était coupé en deux et on faisait des frottis de son contenu sur lames. Le corps de la punaise broyé avec précaution, dans un vase stérile avec de la solution physiologique, servait à préparer une émulsion utilisée pour lesensemencements et les inoculations. Des expériences préliminaires nous avaient montré qu'une semblable émulsion, préparée avec des punaises normales recueillies dans un asile, pouvait être injectée sans inconvénients sous la peau des souris.

Nos préparations étaient colorées d'après Berestnieff avec de la fuchsine phéniquée (fuchsine 1 0/0, eau phéniquée à 3 0/0, glycérine 40). Pour obtenir une bonne coloration polaire, fixer la préparation par la chaleur, verser dessus le bain colorant, laver presque aussitôt à l'alcool à 60° et rapidement passer dans l'eau. Les solutions de Giemsa et de Romanowsky donnent aussi de très belles préparations.

EXPÉRIENCE I. — Le 9 août 1906, une souris est inoculée sous la peau du dos avec une culture de peste en bouillon. Le 12, sur cette souris mourante, on place des punaises qui se remplissent de sang. Après la mort de la souris, on constate les lésions typiques de la peste. Les organes contiennent beaucoup de bacilles pesteux et fournissent des cultures pures de peste.

Punaise n° 1. — Broyée 20 heures après la piqure de la souris, dans de l'eau physiologique, l'émulsion renferme un grand nombre de bacilles caractéristiques. Deux souris inoculées avec cette émulsion meurent de peste typique (œdème, bubons, grosse rate) l'une le 6^e jour, l'autre le 10^e jour. Leurs organes et leur sang montrent un grand nombre de bacilles pesteux.

Punaise n° 2. — 3 jours 1/2 après le repas infectieux, du sang retiré par piqure du dos contient des bacilles pesteux, parfois très longs, se colorant métachromatiquement (Romanowsky). Il y a aussi des cocco-bacilles colorés aux deux extrémités. Les microbes sont rarement groupés en longues chaînes. Le sang a un aspect laqué. Une souris inoculée avec l'émulsion du corps de la punaise est morte en 2 jours 1/2. L'examen n'en a pas été fait.

Punaise n° 3. — Après 7 jours 1/2 il est impossible de retirer du sang de la punaise avec la pipette. Dans les frottis colorés, beaucoup de bacilles caractéristiques, quelques-uns longs. Ils ne se colorent pas par la méthode de Gram.

L'émulsion de la punaise est inoculée à deux souris. L'une meurt en trois jours, de peste caractéristique; la seconde le 7^e jour, elle est également pestiférée. Les cultures pures obtenues de l'émulsion ensemencée sur plaques sont typiques et donnent la peste aux souris.

Punaise n° 4. — 35 jours après le repas infectieux, elle est tout à fait maigre ; placée de nouveau sur une souris pesteuse, elle la pique. On la conserve pendant 40 jours, puis on la broie dans l'eau physiologique. Sur les préparations on ne peut distinguer de bacilles caractéristiques, mais l'ensemencement sur plaques permet d'isoler des colonies pures de peste qui tue une souris en 5 jours. L'émulsion de la punaise inoculée à une souris la fait périr en 15 jours avec bubons, grosse rate, ses organes renfermant le bacille pesteux.

Donc, après 35 jours, le bacille pesteux existait encore à l'état vivant dans le corps de la punaise.

EXPÉRIENCE II. — Le 18 novembre 1906, une souris est inoculée sous la peau avec une culture de peste en bouillon. Le 22 elle est vivante encore, mais presque sans mouvement. Des punaises provenant d'une maison habitée sont introduites dans le bocal, après une heure elles sont plus ou moins gorgées de sang et la souris est morte. Son sang, ses organes sont remplis de bacilles pesteux.

Punaise n° 1. — 24 heures après le repas infectieux, on retire du sang de cette punaise au moyen d'une pipette effilée, il contient un grand nombre de coco-bacilles caractéristiques et fournit une culture tuant la souris en trois jours.

L'émulsion préparée avec la coupe de la punaise inoculée à une souris la fait périr en 2 jours 1/2 de peste caractéristique.

Punaise n° 2. — Utilisée le 4^e jour après le repas infectieux. Sang retiré à la pipette — grande quantité de bacilles pesteux. Emulsion du corps de la punaise — tue une souris en 6 jours avec des lésions pesteuses caractéristiques. Du sang on obtient une culture pure.

Punaise n° 3. — Utilisée après 5 jours. Sang retiré à la pipette — beaucoup de bacilles pesteux, formes d'involution, il donne culture mixte de peste et de cocci. L'émulsion du corps de la punaise inoculée à une souris la fait périr en 2 jours, peste caractéristique confirmée par la culture.

Punaise n° 4. — Dans un peu de sang épais retiré à la pipette le 7^e jour, on distingue encore des globules rouges. Quelques bacilles ayant l'apparence de microbes pesteux, dont la plupart présentent des formes d'involution. Ce sang fournit une culture mixte de bacilles pesteux et de cocci. Cette culture impure inoculée à une souris la tue en 3 jours avec tous les caractères de la peste.

L'émulsion du corps de la punaise fait périr une souris en 3 jours 1/2. Les organes et le sang contiennent une énorme quantité de bacilles pesteux.

Punaise n° 5. — Morte le 9^e jour. Sur les préparations de son contenu, bacilles polymorphes, bâtonnets longs et minces, rares chainettes, bacilles se colorant comme celui de la peste. Il fournit une culture mixte de bacilles et de cocci tuant une souris en 74 heures, avec des bubons contenant des cocco-bacilles pesteux.

L'émulsion du corps de la pupaise fait périr une souris avec les lésions pesteuses habituelles et beaucoup de cocco-bacilles dans le sang et les organes, d'où on obtient une culture pesteuse pure.

Punaise n° 6. — Broyée après 12 jours, dans un peu d'eau physiologique. Les préparations de l'émulsion montrent des bacilles assez gros et pas de microbes de la peste reconnaissables. On distingue à peine la structure des globules du sang. De cette émulsion on obtient une culture de petits bacilles prenant la couleur dans toute leur étendue et inoffensifs pour la souris.

L'émulsion est inoculée directement à une souris. Celle-ci est bien portante 30 jours après. Sacrifiée, elle ne présente aucune lésion. L'ensemencement de ses organes est stérile.

EXPÉRIENCE III. — Le 18 novembre 1906 une souris est inoculée sous la peau avec une culture de bacilles pesteux. Le 22, la souris est malade et dans le sang, coloré d'après Romanowsky, on ne voit aucun bacille, sur des préparations fraîches on en trouve quelques-uns isolés à côté de plaquettes. La souris est mise dans un bocal avec des punaises non affamées; celles-ci sont retirées au bout d'une heure et demie, rassasiées de sang.

Le 24 novembre la souris est morte, environ 35 heures après avoir été piquée par les punaises.

Punaise n° 1. — Le sang puisé à la pipette dans le corps de la punaise 48 heures après le repas montre des globules rouges et pas de bacilles. Ensemencé, il ne donne pas de culture. L'émulsion du corps de la punaise est inoculée à une souris, celle-ci meurt le 20^e jour; les ganglions sont un peu gros, la rate augmentée de volume, mais on n'y trouve de bacilles pesteux ni à l'examen microscopique ni à l'ensemencement.

Punaise n° 2. — Dans le sang retiré à la pipette on ne distingue ni globules de sang ni bacilles. L'ensemencement ne donne pas de culture. Une souris inoculée avec l'émulsion du corps de la punaise meurt en 20 heures, avec de l'œdème du tissu cellulaire des ganglions et une rate un peu grosse. Pas de bacilles visibles sur les frottis d'organe. Le sang du cœur et la pulpe du foie sont stériles.

Punaise n° 3. — Broyée après 6 jours; pas de bacilles sur les frottis. L'émulsion ensemencée ne donne pas de culture. Une souris inoculée avec l'émulsion périt, amaigrie, le 16^e jour, sans contenir de microbes et en présentant de l'augmentation du volume de la rate et des ganglions.

Punaise n° 4. — Sang puisé à la pipette le 8^e jour après le repas; sur les préparations pas de globules distincts, pas de bacilles pesteux. L'ensemencement fournit des cultures de bacilles non pesteux et de cocci. Cette culture mixte est inoffensive pour la souris. L'émulsion du corps de la punaise est inoculée à une souris, elle meurt le second jour avec des convulsions et de la paralysie des extrémités. A l'autopsie, ganglions et rate augmentés de volume, ne contenant pas de microbes.

Punaise n° 5. — Les frottis faits le 10^e jour ne montrent pas de bacilles dans le corps de la punaise, l'ensemencement donne une culture de cocci inoffensifs. L'émulsion du corps de la punaise est inoculée sans résultat sous la peau d'une souris.

EXPÉRIENCE IV. — Une punaise à jeun (de la première série) pique une souris pesteuse, au bout de 33 jours on lui fait sucer le sang d'une souris saine. Dix jours après, dans des préparations du sang retiré du corps de la punaise à la pipette, pas de bacille, des formes indécises de cocci. L'ense-

mencement donne une culture de peste peu typique. Cette culture est inoculée à une souris, celle-ci meurt le 47^e jour; à l'autopsie petits bubons, grosse rate, les frottis des organes montrent par place des cocco-bacilles semblables à celui de la peste. Du sang on obtient une culture pure de peste.

Il résulte de nos expériences que les punaises qui se sont nourries de sang de souris pesteuses, n'en paraissent pas du tout incommodées, puisque nous avons pu les conserver vivantes jusqu'à 2 mois 1/2 après le repas de sang infecté.

Le bacille pesteux reste vivant et virulent dans le corps de la punaise; il ne paraît pas pulluler dans le tube digestif jusqu'au 3^e jour, car le sang que l'on retire à ce moment de la punaise n'est pas plus riche en bacilles pesteux que le sang de la souris piquée. Mais du 3^e au 6^e jour les cocco-bacilles deviennent plus nombreux, les préparations donnent l'impression d'une culture assez riche et pure. Vers le 8^e ou le 10^e jour les bacilles se modifient, les formes d'involution apparaissent; on remarque alors des filaments minces ne prenant plus la coloration polaire, en même temps se montrent des cocci. La disparition des formes caractéristiques du cocco-bacille pesteux coïncide avec le changement d'aspect des globules, sans doute sous l'action des sucs digestifs. Plus tard, sur les préparations du contenu de la punaise, on ne distingue plus le microbe de la peste et pour le mettre en évidence il faut avoir recours à la culture. Les émulsions des corps de punaises sont virulentes, surtout celles préparées du 6^e au 8^e jour après le repas infecté, c'est en effet à cette période que le développement des bacilles dans le tube digestif paraît le plus abondant.

Après les résultats que nous avons exposés, nous ne nous expliquons pas comment, dans les expériences de M. Nuttal, une souris inoculée avec le contenu de 4 punaises 24 heures après le repas infecté, soit restée vivante. Nous ne pouvons nous ranger à son opinion à savoir : que les germes pesteux périssent rapidement dans le corps des punaises. Pour nous, au contraire, ils y pullulent d'abord, puis s'y conservent assez longtemps.

Notre quatrième expérience prouve bien qu'il en est ainsi, puisque chez une souris qui s'était nourrie de sang pesteux 35 jours auparavant, il existait encore des germes vivants. En

effet, après un nouveau repas sur une souris saine, on obtient avec cette punaise une culture qui tue une souris de peste chronique.

Dans l'expérience n° III, la souris inoculée avec l'émulsion des punaises qui se sont nourries sur une souris pesteuse 35 heures avant sa mort, ont succombé sans contenir de *coccobacilles* de la peste. L'explication de leur mort est difficile à donner, cependant elles n'ont pas péri accidentellement, elles ont toutes présenté des signes d'intoxication nerveuse.

Les punaises qui viennent de sucer le sang d'une souris pestiférée peuvent-elles communiquer la maladie à une souris saine par piqure ? Des punaises incomplètement gavées sur une souris pesteuse ont été transportées sur des souris saines sans que celles-ci en éprouvent de dommage. Sacrifiées au bout de quelques jours, elles ne contenaient point de microbes pesteux. D'après ce que nous savons de la pullulation des bacilles pesteux dans le corps de la punaise du 5^e au 8^e jour, il aurait sans doute mieux valu faire l'expérience avec des punaises dans ces conditions.

L'échec de ces essais ne doit cependant pas nous faire conclure que la punaise ne joue aucun rôle dans la propagation de la peste. On conçoit, en effet, que si le bacille pesteux se conserve dans le tube digestif de la punaise, il puisse arriver que celle-ci, écrasée sur place après qu'elle a piqué, puisse communiquer la maladie. D'ailleurs, MM. Calmette et Salimbeni, à Oporto, ont noté la présence de phlyctènes pesteuses au niveau de piqures de punaises. Sans attribuer à ces insectes un rôle aussi important pour la diffusion de la peste que celui des puces, nous pensons que dans certaines circonstances, cette affection peut être communiquée à l'homme par les punaises et que dans les maisons pestiférées il sera utile de poursuivre leur destruction.

Comme conclusions à ce travail nous dirons :

Que le *cocco-bacille* de la peste se conserve avec sa virulence dans le corps des punaises pendant 10 jours et plus.

Que cette circonstance permet de croire que la punaise est, dans certains cas peut-être, un agent de transmission de la maladie.

Contribution à l'étude des causes d'insuccès du traitement antirabique.

PAR M. LE D^r PAMPOUKIS

(Directeur de l'Institut antirabique d'Athènes.)

De 1901 à la fin de 1905, nous avons traité à notre Institut 2,346 personnes ; parmi elles, 5 sont mortes de rage plus de 15 jours après la fin du traitement ; la mortalité a donc été de 0,21 0/0 pendant cette période quinquennale.

Depuis la fondation de l'Institut, en août 1894, jusqu'à la fin de l'année 1905, 4,524 personnes ont été traitées, 11 ont succombé plus de 15 jours après avoir subi le traitement ; la mortalité générale rectifiée est donc de 0,24 0/0.

La maladie s'est déclarée à des moments divers, dans les 4 mois qui suivent les inoculations antirabiques.

C'est un fait déjà signalé qu'un refroidissement brusque favorise l'apparition de la rage chez les personnes mordues par des animaux enragés.

Voici quelques faits à l'appui de cette opinion.

I. N. K., paysan, âgé de 24 ans, mordu le 12 juillet 1895 à l'avant-bras, est traité du 26 juillet au 14 août. Le 3 septembre, il traverse une rivière. Le lendemain la rage se déclare.

II. S. S. Traité pour une morsure de chien enragé, du 13 mars au 20 avril, se met à prendre des douches froides à partir du 9 mai, le 13 il est atteint de rage.

III. D. K., âgé de 30 ans, mordu le 18 mars 1904, traité du 23 mars au 16 avril, est fortement mouillé le 8 juin. Le lendemain la rage se déclare.

IV. N. K., âgé de 24 ans, mordu le 8 février 1905, est traité du 16 février au 12 mars. Le 17, il entre dans un bassin plein d'eau, le 19 il est trempé par la pluie ; le 20 mars il présente les symptômes de la rage.

V. Z., enfant de 13 ans, est mordu au visage le 11 mars 1905 ; il est mis en traitement le 15 mars. Le 30 il s'endort en plein air et reste exposé au froid jusqu'à 10 heures du soir. Le lendemain la rage se déclare.

L'abus de l'alcool nous a paru aussi faciliter l'éclosion de la rage. Chez 2 personnes traitées par nous, la maladie s'est montrée après qu'elles s'étaient enivrées.

Pour éviter les rares insuccès du traitement Pastorien préventif de la rage, nous nous proposons de généraliser l'emploi des mélanges de sérum antirabique et de virus fixe.

Nous pensons aussi que les personnes traitées doivent, pendant les trois mois qui suivent les inoculations, éviter les refroidissements et les écarts de régime.

Enfin, pour éviter les traitements tardifs, il serait fort utile que les autorités prennent des mesures pour que les personnes pauvres soient dirigées, sans perte de temps, sur un institut antirabique. En Grèce, où nous ne disposons pas d'établissement pour hospitaliser les personnes traitées, il faudrait leur assurer un logement convenable et une nourriture substantielle pendant le traitement et pendant les quelques semaines qui suivent.